

文章编号: 0529-6579 (2000) S-0195-05

斑节对虾杆状病毒病的药物防治研究^{*}

李贵生^{1,2}, 何建国¹, 李桂峰¹, 江静波¹

(1. 中山大学生命科学学院, 广州 510275; 2. 暨南大学生物工程学系)

摘 要: 通过广东省廉江市龙营围对虾养殖场的现场试验, 对 3 种防治虾病的药物进行了比较研究. 结果显示, 各处理组斑节对虾杆状病毒 (*Penaeus monodon* baculovirus MBV) 感染率与用药前及对照组比较均无显著性差别 ($P > 0.05$). MBV 感染度各处理组与用药前及对照组比较均有显著性差异 ($P < 0.05 \sim P < 0.001$). 其中以 2 号药物的作用较明显, 但各处理组之间无显著性差别 ($P > 0.05$). 对照组与用药前比较无显著性差别 ($P > 0.05$). 研究表明, 3 种药物均能降低 MBV 的感染度, 起到预防 MBV 病发作的作用. 鉴于 2 号药物价格较昂贵, 而 1 号药物和维生素 C 则药源丰富, 价格便宜, 其作用和 2 号药物无显著性差别, 故主张 1 号药物和维生素 C 合用, 作为预防 MBV 病发作的首选药.

关键词: 斑节对虾杆状病毒 (*Penaeus monodon* baculovirus, MBV); 药物防治; 斑节对虾 (*Penaeus monodon*)

中图分类号: S945.4⁺7 文献标识码: A

近年来, 由于斑节对虾杆状病毒 (*Penaeus monodon* baculovirus, MBV) 病的流行, 给斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 的养殖带来了很大的损失, 很多虾池绝产绝收, 致使虾农谈“病”色变. MBV 病的防治和其他对虾病毒病的防治一样, 要从环境治理、抑制病原体和保护对虾三方面着手. 经研究, 发现一些水体理化因子含量的变化与 MBV 的复制存在着密切的关系^[1], 良好的水质可以抑制 MBV 的复制, 起到预防 MBV 病的作用. 在生产实践中, 虾池的水质常常受到残饵和对虾排泄物的污染, 而且不易监测, 故水质较难控制. 鉴于目前尚缺乏特效药来治疗对虾病毒病, 一些学者已在探索通过提高对虾免疫力来预防对虾病毒病的发作, 并取得了一定的进展^[2~5]. 其中口服免疫药具有较大的优越性, 是今后对虾病毒病防治的发展方向. 为了探索一些药物对 MBV 病的防治效果, 我们于 1994 年 6 月 22 日至 7 月 1 日在广东省廉江市龙营围对虾养殖场进行了 1 号药物的现场防治实验. 随后, 于 1994 年 8 月 30 日至 9 月 30 日又在上述养殖场进行了包括 1 号药物在内的 3 种药物对比试验, 旨在寻找一种较有效的药物应用于 MBV 病的防治.

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39670577); 国家教育部博士点基金资助项目; 广东省自然科学基金资助项目

收稿日期: 1999-09-15

1 材料和方法

1.1 药 物

1 号药物, 自制, 选择数种对病毒有作用的药物配制而成; 2 号药物, 购自市场; 维生素 C, 市场购买。

1.2 实验方法

1.2.1 1 号药物试验 选取 3 口虾池, 每口虾池面积约 1.33 hm^2 , 平均水深约 90 cm. 其中 2 口虾池为实验虾池, 1 口虾池为对照虾池. 用药前检查 3 口虾池对虾健康状况基本一致. 药物按 100 g 饲料加 10 mL 的比例掺和到人工饵料中投喂. 于实验前和实验结束时各取 1 次虾样, 每次每口虾池取 10 尾虾, 解剖后取出肝胰腺, 记录外表情况后置于 Bouin s 液固定, 常规组织切片法切片, HE 染色后在高倍镜下观察, 分别计算出 MBV 感染率和感染度.

1.2.2 药物比较试验

(1) 实验分组. 分 4 个处理组, 分别为 1 号药物组、2 号药物组、维生素 C 组、1 号药物+维生素 C 组, 另设一对照组. 供试虾均采自 7 号虾池, 分装在不同的自制实验用塑料桶中, 桶的口径为 31 cm. 每组分 3 桶, 每桶盛 5 尾, 然后置于同一虾池中, 桶口用供作纱窗用的尼龙网纱封住, 防虾逃逸.

(2) 投药方法. 药物分别掺入人工饵料中投喂, 按 1 号药物 1 kg 饲料加 100 mL, 2 号药物 1 kg 饲料加 5 g, 维生素 C 1 kg 饲料加 3 g 的比例配制药饵.

(3) 虾样的采集. 用药前于 7 号虾池取虾 10 尾, 解剖后取出中肠腺, 然后用 Bouin s 液固定待检. 实验结束后收集各组虾, 分别解剖取出其中肠腺, 用 Bouin s 液固定待检.

(4) 疗效评估. 将实验前和实验后虾样的中肠腺进行常规组织切片, HE 染色, 然后计算出 MBV 的感染率和感染度, 经统计分析, 比较各处理组结果的差别.

2 结果和分析

2.1 1 号药物试验

对照虾池于 6 月 25 日出现个别死亡病虾, 6 月 26 日死虾达 30 多尾, 以后病情迅速, 被迫提前收虾. 两口实验虾池在整个试验过程中没有出现死虾, 一直维持到 7 月 16~26 日收完对虾. 用药前中肠腺组织切片检查结果为: 两口实验虾池 MBV 感染率为 100%, 感染度分别为 6.994% 和 3.645%, 对照虾池 MBV 感染率为 90%, 感染度为 1.502%. 用药 9 d 后的中肠腺组织切片检查结果为: 实验虾池 MBV 感染率分别为 80% 和 70%, 感染度分别为 1.079% 和 0.612%, 与用药前比较, 其感染度显著下降 ($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$). 对照虾池 MBV 感染率为 90%, 感染度为 1.745%, 与实验前比较无显著性差别 ($P > 0.05$, 见表 1).

2.2 药物比较试验

对照组和 2 号药物组在实验过程中因下大雨使对虾逃逸数尾, 在实验结束时各收集 10 尾对虾, 其余试验组各收集 15 尾对虾. 试验过程中无对虾死亡. 中肠腺组织切片检查结果见表 2.

表 1 1 号药物试验结果

样本	MBV 感染度/ %					
	1 号虾池		2 号虾池		3 号虾池 (对照)	
	用药前 (0622)	用药后 (0701)	用药前 (0622)	用药后 (0701)	0622	0701
1	1. 634	0	4. 762	2. 878	2. 222	0. 370
2	15. 662	0. 674	3. 226	0. 473	1. 634	2. 249
3	0. 778	0	2. 252	0. 333	1. 136	0. 992
4	6. 250	0. 741	2. 273	0. 185	1. 190	0. 901
5	13. 889	0. 408	3. 241	1. 587	2. 357	0
6	15. 432	0. 833	5. 910	0	0. 980	1. 515
7	1. 042	5. 306	0. 521	0. 483	2. 222	1. 111
8	10. 993	0. 476	7. 672	0	1. 923	2. 698
9	3. 878	1. 944	3. 261	0. 185	0	2. 778
10	0. 383	0. 412	3. 333	0	1. 355	4. 831
平均数	6. 994	1. 079	3. 645	0. 612	1. 502	1. 745
标准差	6. 383	1. 583	2. 021	0. 924	0. 725	1. 431

表 2 几种药物的试验结果

样本	MBV 感染度/ %					
	用药前 (1)	对照组 (2)	2 号药组 (3)	维生素 C 组 (4)	1 号药组 (5)	维生素 C+1 号药组 (6)
1	3. 853	0. 444	1. 062	0. 316	0. 577	3. 561
2	4. 815	7. 646	0. 833	4. 336	0. 287	0. 529
3	10. 202	13. 437	0. 253	16. 288	0. 136	1. 087
4	6. 790	13. 556	0. 238	7. 704	0	0. 122
5	2. 957	14. 903	1. 123	0. 206	0. 353	0. 323
6	0. 606	2. 778	0. 391	3. 852	0	3. 263
7	3. 535	0. 417	0. 601	0. 141	2. 124	1. 333
8	1. 010	2. 091	2. 946	0. 249	0. 463	0. 778
9	17. 778	0. 497	0	0. 966	7. 192	0. 412
10	17. 037	5. 079	0	0. 131	5. 068	0. 278
11	—	—	—	0. 731	1. 082	1. 984
12	—	—	—	0. 142	0. 505	0
13	—	—	—	0. 287	0. 992	2. 546
14	—	—	—	1. 481	0. 882	0
15	—	—	—	0. 505	2. 293	1. 333
平均数	6. 858	6. 085	0. 745	2. 489	1. 464	1. 170
标准差	6. 207	5. 899	0. 872	4. 388	2. 053	1. 171

各处理组 MBV 感染率与用药前及与对照组比较均无显著性差别 ($P>0.05$). MBV 感染度各处理组与用药前及与对照组比较均有显著性差异 ($P<0.05\sim0.001$). 其中以 2 号药物的作用较明显. 各处理组之间无显著性差别 ($P>0.05$). 对照组与用药前比较无显著性差别 ($P>0.05$).

3 讨论与结论

自从对虾病毒病暴发流行后,国内外的不少学者均致力于寻找抗对虾病毒病的有效措施,虽经多方努力,但对虾病毒病始终未得到全面有效的控制.由于养殖条件的限制,存在着交叉污染的现象,增加了水质管理的难度,因此,保护对虾免受病害的侵袭,提高对虾的抵抗力,应用口服药物防治虾病日益受到重视.在无脊椎动物中,由于缺乏免疫球蛋白^[6],在免疫中起识别外源物质作用的重要因子是凝集素^[7]和血细胞内的酚氧化酶原系统^[8],该系统中的成分被激活后可促进血细胞的吞噬与包裹、介导凝集和凝固,产生杀菌物质等,起到抵御病原菌的作用.目前,对虾病毒病的药物防治研究报道不多,与 MBV 感染度直接联系起来的的研究则未见报道.我们在实验中观察了 1 号药物、2 号药物及维生素 C 对 MBV 病的防治效果.虽然不能降低 MBV 的感染率,但所有试验的药物均能显著地降低 MBV 的感染度,抑制 MBV 病的发作,达到养成上市的目的.但这些药物必须在对虾未发病之前投喂,起预防作用,如对虾已发病,由于对虾摄食减少或不摄食,药物难以到达对虾体内,不能起到防治作用.

MBV 由核衣壳和围绕核衣壳的囊膜所构成,缺乏核糖体和线粒体等细胞器,无代谢必需的酶系统,其增殖必须由宿主细胞供应原料、能量和复制的场所.在 MBV 增殖周期中,只要阻断其中任一环节,即能达到抑制 MBV 增殖的目的.试验用的 1 号药物由数种对病毒有抑制作用的药物配伍组成,但其对病毒的作用环节尚不清楚.2 号药物据报具有广谱的抗菌和抗病毒作用,可激活宿主的吞噬细胞来消灭病菌与病毒.维生素 C 具有促进吞噬细胞的吞噬功能,并可非特异性地与病毒结合,使病毒失活,从而起到抗病毒的作用.

研究结果显示,试验的 3 种药物均能降低 MBV 的感染度,起到预防 MBV 病发作的作用.2 号药物由于价格较昂贵,而 1 号药物和维生素 C 则药源丰富,价格便宜,其作用和 2 号药物无显著性差别,故主张 1 号药物和维生素 C 合用,作为预防 MBV 病发作的首选药.

参考文献:

- [1] 李贵生,何建国,李桂峰,等.斑节对虾杆状病毒感染与水体理化因子[J].中山大学学报论丛,1996(增刊):26~30.
- [2] 王雷,李光友,毛远兴,等.口服免疫型药物对养殖中国对虾病害防治作用的研究[J].海洋与湖沼,1994,25(5):486~492.
- [3] 王雷,李光友,毛远兴.中国对虾血淋巴中的抗菌、溶菌活力与酚氧化酶活力的测定及其特性研究[J].海洋与湖沼,1995,26(2):179~185.
- [4] 罗日祥.中国对虾凝集素活力及弧菌的诱导动力学[J].海洋学报,1997,19(1):117~120.
- [5] 罗日祥.中药制剂对中国对虾免疫活性物的诱导作用[J].海洋与湖沼,1997,28(6):573~578.
- [6] GOOD R A, PAPERMASTER B W. On to geny and phylaogeny of adaptive immunity[J]. Advan Immunol, 1964, 4: 1~15.
- [7] MARCHALONIS J J, EDELMEN G M. Isolation and characterization of a hemagglutinin from *Limulus polyphemus* [J]. J Mol Biol, 1968, 32: 453~465.
- [8] FISHER C W, BRADY U E. Activation properties and collection of hemolymph phenoloxidase of the *American cockroach*, *Periplaneta americana*[J]. Comp Biochem Physiol, 1983, 75A: 111~114.

Pharmaceutical Prevention and Treatment of *Penaeus monodon* Baculovirus Disease

LI Gui-sheng^{*}, HE Jian-guo, LI Gui-feng, JIANG Jing-bo

Abstract: This paper deals with the prevention and treatment effects of drug 1, drug 2 and vitamin C for *Penaeus monodon* baculovirus (MBV) disease by experimenting on — the — spot in Longyingwei prawn farm of Lianjiang city. According to the final detective results, there were no statistical differences for MBV infection rate in three experimental groups as compared with experimental beginning and contrast group ($P > 0.05$), but there were obvious statistical differences exist for MBV infection severity grade in three experimental groups as compared with experimental beginning and contrast group ($P < 0.05 \sim 0.001$). No statistical differences exist for treatment effects among three experimental groups ($P > 0.05$) though drug 2 was the best. No statistical differences for MBV infection severity grade in contrast group from the beginning to the completion of the experiment ($P > 0.05$). Researches revealed that drug 1, drug 2 and vitamin C can reduce the infection severity grade of MBV and inhibit MBV disease from breaking out. For economical reason, it is better that drug 1 and vitamin C are used together for prevention of MBV disease.

Keywords: *Penaeus monodon* baculovirus; drug prevention and treatment; *Penaeus monodon*

^{*} School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China