

文章编号: 0529-6579 (2000) S-0190-05

# 对虾病毒性白斑病的流行病学<sup>\*</sup>

郭银汉<sup>1</sup>, 林诗发<sup>1</sup>, 杨小强<sup>2</sup>, 张 诚<sup>2</sup>, 谢联辉<sup>1</sup>

(1. 福建农业大学病毒研究所, 福州 350002;  
2. 福州市海洋生物工程研究开发中心, 福州 350026)

**摘 要:** 在福州地区分离到一种高致病性的白斑病病毒, 该病毒致病性强, 可感染不同品种、不同生长期和不同形体大小的个体。引发的病害潜育期短、病程短、死亡率高, 病害覆盖面积广, 发病时间大多集中在 6 月和 9 月, 其中以 6 月中下旬最为集中。以长毛对虾为对象测定温度与侵染性关系, 结果表明, 高温可促进发病, 低温可延缓发病并延长病程; 在长毛对虾生长的适温范围 (8 ~ 32 °C) 内, 病毒均可侵染并造成寄主发病。病毒的感染途径主要是经口感染, 通过摄食饵料和携带病原的病弱个体等方式传播, 正常情况下, 不会经水传播。

**关键词:** 对虾白斑病病毒; 流行病学

**中图分类号:** S945.4<sup>+</sup>1/945.4<sup>+</sup>9 **文献标识码:** A

对虾养殖是福建沿海地区的一个重要产业, 自 1992 年起发生大规模流行性病害以来, 产量大幅度下降, 至今仍在低谷中徘徊。为尽早解决对虾病害问题, 以福州地区为立足点, 对福建省对虾病害的病原进行了研究。

1997 ~ 1999 年, 从福州地区各对虾养殖场采集了多组病虾样品。病虾的主要特征为对虾甲壳上出现白斑, 感染个体活力差, 摄食量下降, 病害病程短, 死亡率高。上述特征与近年来国内外普遍流行的病毒性白斑病相同<sup>[1~7]</sup>。经人工感染实验和病原回接实验证实, 该病害的主要致病病原为病毒。现已分离到该病害的一种致病病毒, 并对其流行病学进行了初步的研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品来源

1997 ~ 1998 年从福州地区 15 个对虾养殖场采集到不同养殖季节、不同养殖池的多种白斑病对虾样品 (斑节对虾、长毛对虾和短沟对虾), 样品虾体长 2 ~ 12 cm, 上述样品 -70 °C 保存, 备用。

### 1.2 病毒提取

将去除甲壳的病虾头胸部加入 4 倍 (w/V) 的缓冲液 TENP (500 mmol/L Tris-HCl, 10

<sup>\*</sup> 收稿日期: 1999-09-15

mmol/L EDTA, 100 mmol/L NaCl, 1 mmol/L PMSF, pH 8.0), 冰浴匀浆, 匀浆液 7 000 g 离心 30 min, 取上清, 50 000 g 离心 2 h, 保留沉淀作为病毒的粗提纯物。取少许沉淀悬浮于 TE 缓冲液 (pH 8.0), 负染观察。其余沉淀直接用于人工感染实验。

### 1.3 实验对虾

分别从不同育苗场进苗, 不同来源的虾苗完全隔离饲养, 虾苗入池前经高锰酸钾冲洗, 以除去虾苗表面的病原。养殖池为水泥地, 建于密封的养殖室内。养殖用水由近海抽入, 经沉淀池沉淀两天以上, 然后经二级沙滤进入清水池, 再经 400 目的水袋过滤进入实验室蓄水池。蓄水池内的海水用有效氯浓度为  $50 \times 10^{-6}$  的漂白粉消毒 12 h 以上, 以杀灭其中所有病原微生物; 使用前加入适量硫代硫酸钠, 中和残留的氯。饵料采用配合饵料或高温蒸煮过的鲜活饵料; 养殖池每天吸污 1~2 次, 并定期 (每月) 加入甲醛等化学试剂进行池内消毒; 定期从各池内抽样, 应用光镜、电镜和 PCR 等方法检测样品携带病原的情况, 选取 3~5 cm 的健康对虾作为人工感染的实验对虾, 饲养的对虾品种有长毛对虾、短沟对虾和斑节对虾。

### 1.4 病毒感染实验

选取同池的大小相近的自养健康对虾 60 条, 分为 6 组, 每组 10 条, 2 组为对照组, 4 组为感染组, 暂养于 90 L 的塑料桶中, 充气, 保证供氧, 每天吸污换水。暂养 7 d 后, 饥饿过夜。控温, 维持水温恒定, 盐度维持在 20‰~25‰ 定时监测、记录实验对虾的健康情况, 将濒死的实验对虾用于电镜观察, 每组观测时间为 20 d。

(1) 投喂感染。对照组投喂配合饵料, 感染组投喂以 1:10 (w/w) 混入粗提纯病毒的配合饵料, 每天投喂 2 次, 投喂量约为总生物量的 10%。

(2) 浸泡感染。对照组和感染组均投喂配合饵料, 将病毒粗提液用消毒海水稀释到终浓度为 20 mg/L, 以此海水养殖感染组对虾 20 d, 观察感染组对虾的健康状况。

收集病程在 7 d 以内的投喂感染组的“生活废水”, 吸污除去块状的残饵、粪便, 用以感染组对虾的养殖。对照组和感染组均投喂配合饵料。实验持续 1 个月。

### 1.5 不同温度的感染实验

按照投喂感染实验的方法, 设置 5 个不同温度范围的感染组, 每个温度范围 4 组, 记录实验对虾发病死亡的时间。

## 2 结果与讨论

### 2.1 病原

从各种表现白斑病症状的对虾样品中分离到一种病毒, 将病毒粗提取物以投喂方法感染健康的实验对虾, 可造成对虾感病, 呈现相同症状。从感染组对虾中再次分离到该病毒 (图 1) 根据“柯赫法则”, 要以确定该病毒是白斑病的致病病毒, 细胞病理观察表明, 该病毒似子弹状 (图 2), 只见于细胞质中 (图 3)。

### 2.2 病害特征

2.2.1 症状 对虾病毒性白斑病是一种病程短, 死亡率高的暴发性流行病害, 患病对虾症状明显主要特征为头胸甲白斑, 发病时摄食少或停止摄食, 应激性下降, 体色由澄清转为浑浊, 幼虾常出现肝胰腺白浊肿大、红尾、严重者通体发白。

2.2.2 病害分布 病害覆盖福州地区沿海各对虾养殖地区, 发病池塘和无病池塘交错分

布，无明显规律可循。发病池塘的比例高于无病池塘。通常头年丰产的池塘，次年发病的概率很大。可能是由于池底的富营养化导致水质恶化。

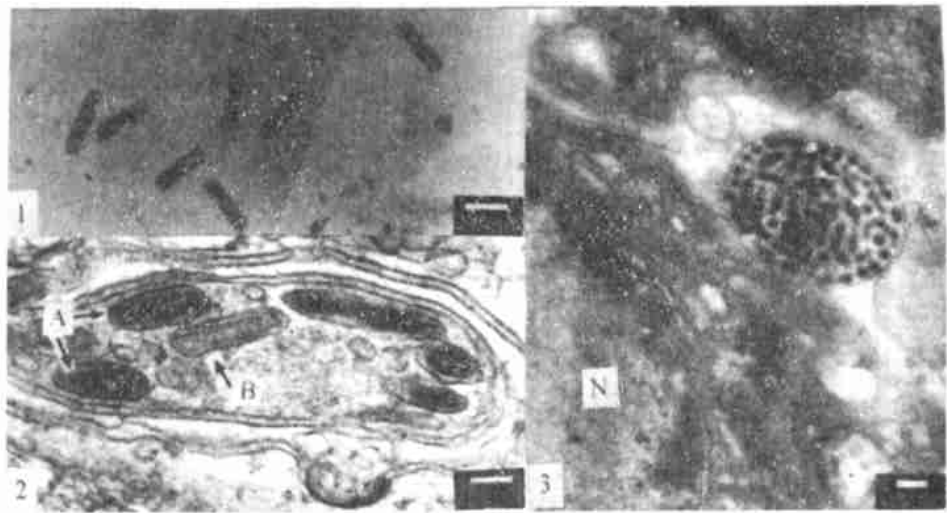


图 1 负染观察到的纯化病毒核衣壳

图 2 类似子弹状的病毒粒子（A 正常的病毒粒子；B 无核心的病毒粒子）

图 3 细胞质中的病毒群

2.2.3 发病时间 1997～1998 年，福州地区对虾白斑病发生有 2 个高峰期（图 4），第 1 次发生在 6 月，第 2 次发生在 9 月。最集中的时间是 6 月中下旬。发病高峰期并不是在养殖期间气温最高的时节，而多是气温变化较大的时候或台风之后，可能是因为水环境变化比较剧烈，促进了病害的发生。

2.2.4 寄主范围 福州地区的主要对虾养殖品种为斑节对虾、长毛对虾和短沟对虾，3 个养殖品种均能感染白斑病，病症和病程没有明显差异。人工感染的结果与此相似。可见，这 3 种对虾品种均为感病品种。该病毒有广泛的寄主范围。

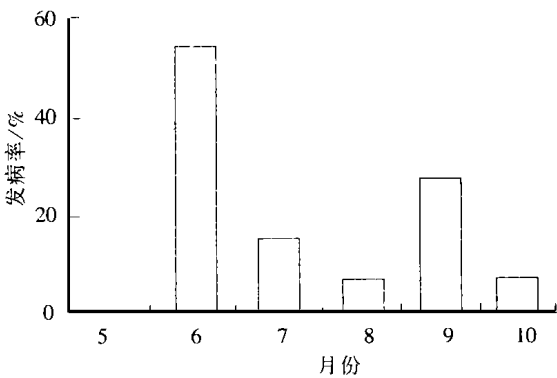


图 4 1997～1998 年福州地区对虾病毒性白斑病发生的时间分布图

2.2.5 个体差异 从各养殖场收集到的病虾样品体长 2～12 cm，生长期 20 d 到 4 个月；人工感染实验中，不同体长（2～12 cm）和生长期（1～7 个月）的个体均可感病。在采样调查过程中发现，虾龄小的个体病程略短，虾龄长的病程略长，此结果与人工感染的实验结果相符，这表明对虾在个体成熟过程中抗病力有所增强。但由于对虾的免疫系统很低级，因此发育程度造成的抗病性差异并不明显。在自然养殖的池塘中，通常大的个体先发病，小的个体后发病，但人工感染实验中，不同大小的个体感病性没有明显的差别。这是

因为池塘中大的个体抢食病弱个体的几率大，而人工感染实验中，人为造成的不同个体获食毒源的几率基本相同，因此没有感病次序的差别。

2.2.6 温度 温度对病毒侵染性和对虾的耐病性有明显的影响。病害调查结果表明，病害发生时各养殖池的水温都在 25℃以上，不同温度下，对虾感病的病程也有差别。其中，人工投喂感染实验的结果如表 1。这一结果表明，高温可促进对虾感病和发病。以长毛对虾为实验动物的低温感染实验表明，在水温低达 8~9℃时，白斑病病毒仍可侵染对虾，造成对虾发病。这与黄海水产所报导<sup>[8]</sup>的中国对虾感染 HHNBV 发病死亡的最低温度（17~18℃）相差较大。尚不能确定是寄主品种的影响，还是病毒种类的影响。

表 1 温度对对虾白斑病病毒人工感染的影响<sup>1)</sup>

| 对虾累积<br>死亡率/% | θ/℃   |       |       |       |       |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|
|               | 30~32 | 27~30 | 24~27 | 20~24 | 15~20 |
| 0             | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     |
| 20            | 2.3   | 2.8   | 3.3   | 3.8   | 5.3   |
| 40            | 3.5   | 4.3   | 6.3   | 8.0   | 7.5   |
| 60            | 5.3   | 5.0   | 9.5   | 9.5   | 9.8   |
| 80            | 5.8   | 7.3   | 13.3  | 14.8  | 14.8  |
| 100           | 7.3   | 9.3   | 15.8  | 18.8  | 22.3  |

1) 感染死亡时间/d

2.2.7 平均潜育期和病程 根据各养殖场病害发生的调查结果，对虾白斑病的平均潜育期少于 1 周，病程少于 2 周，大部分养殖池从发现大量死虾时起到基本绝池，时间不超过 1 周。温度在 25℃以上的工人投感染组的平均潜育期为 2.2 d，平均病程 11 d。

2.3 传播途径

白斑病病毒主要是通过摄食发病或死亡个体传播的，也有一些是通过苗种或鲜活饵料引入的。

2.3.1 虾苗 已有多家报道证实白斑病病毒可垂直传播，即通过苗种引入传播。在对福州地区获得的这种白斑病病毒的研究中，发现有 2 个养殖池里的短沟对虾感染了白斑病，经鉴定病虾体内含有病毒。这 2 个养殖池的虾苗来自同一苗场，并且这批对虾是严格按照实验对虾养殖方法进行养殖的，不同苗源的相邻养殖池在完全相同的养殖条件下并没有感病，抽样也未发现病毒，因此可以确定，病毒来自于苗种。

2.3.2 食物 食物是虾池内传播病毒最主要的渠道。除了可能摄食携带病毒的鲜活饵料外，对虾还时常摄食病弱个体，一旦摄食到携带病毒的个体，就形成病害传播的链式反应，使病害迅速传播开来。

2.3.3 水 水也被认为是病毒传播的可能渠道之一，但 2 组感染实验证明，水在白斑病毒的传播过程中并非介体，第 1 组实验，将投喂感染组的生活废水经简单的吸污处理后，用于健康实验对虾的浸泡感染；第 2 组实验，将实验对虾浸泡于 20 mg/L 的病毒悬液中进行感染，结果 2 组实验取得相同的结果；用于感染的实验对虾全部健康，无病症表现，未检测出病毒，这一结果说明，在养殖过程中，即使海水中有少量病毒，也不足以造成对虾感染，水不是白斑病病毒传播的主要媒介。

## 参考文献:

- [1] 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, 27(5): 415 ~ 420.
- [2] 国际翔, 王丽霞, 李文清, 等. 辽宁沿海养殖对虾暴发性病害病因分析[J]. 电子显微学报, 1994, 5: 355.
- [3] 黄耀, 宋晓玲, 于佳, 等. 杆状病毒性的皮下及造血组织坏死一对虾暴发性流行病的病原和病理学研究[J]. 海洋水产研究, 1995, 16(1): 1 ~ 10.
- [4] 黄耀, 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.
- [5] 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.
- [6] 张红卫, 王金星, 于士广, 等. 山东中国对虾暴发病病原体的研究[J]. 海洋科学, 1995(1): 5 ~ 7.
- [7] YANG F, WANG W, CHEN R Z, et al. A simple and efficient method for purification of prawn baculovirus DNA [J]. J Virol Meth, 1997, 67: 1 ~ 4.
- [8] 宋晓玲, 黄耀, 王崇明, 等. 皮下及造血组织坏死杆状病毒对中国对虾亲虾的人工感染[J]. 水产学报, 1996, 20(4): 374 ~ 378.

## Epidemiological of White Spot Viral Disease of Shrimp

GUO Yin-han<sup>\*</sup>, LIN Shi-fa, YANG Xiao-qiang, ZHANG Cheng, XIE Lian-hui

**Abstract:** A high virulent virus of white spot disease was got in Fuzhou. The virus can infect different species of shrimp with different growth periods and sizes. The average incubation period and courses of the disease is short, and the mortality is high. The disease is all over Fuzhou, and mainly occurred in June and September. Experiment of artificial infection shows, in the wide range of temperanure (8 ~ 32 °C) that is appropriate for growth of *Penaeus penicillatus*, the virus can infect shrimp. The transmission is mainly though feed, including alive feed and ill shrimp with virion. However, in general, water can not transmit virion.

**Keywords:** white spot viral disease of shrimp; epidemiological

<sup>\*</sup> Institute of Virology, Fujian Agricultural University, Fuzhou 350002, China