

文章编号: 0529-6579 (2000) S-0180-04

中国对虾一种杆状病毒的超微结构^{*}

陈细法¹, 陈 平¹, 吴定虎², 池信才², 黄 槐²

(1. 厦门大学; 2. 厦门市水产研究所)

摘 要: 应用电镜超薄切片技术, 发现中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 肝胰腺上皮、肠上皮和甲壳下表皮细胞质中 1 种杆状病毒粒子, 为中国对虾杆状病毒 (CBV). 该病毒直径 44~45 nm, 长度 170~200 nm, 中央是高电子密度的核心, 外裹的衣壳不明显, 但囊膜清晰可辨, 在囊膜与核心之间有一个中宽端窄的间隙, 本病毒仅在胞质中增殖, 不形成包涵体, 但形成封入体, 它们所造成的靶细胞病理变化不明显.

关键词: 中国对虾 (*Penaeus chinensis*); 中国对虾杆状病毒; 超微结构

中图分类号: Q934.2 **文献标识码:** A

目前已知的养殖对虾病毒种类有 20 多种, 杆状病毒占一半以上, 能引起严重病害的病毒也有 12 种之多, 这是养虾业面临严峻的问题. 作者在检测高健康对虾养殖样品时, 发现中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 重要器官中的一种杆状病毒 (*Penaeus chinensis* baculovirus, CBV) 粒子.

1 材料与方法

1.1 材 料

在无发病虾池采集健康中国对虾的仔虾和成虾, 分别取其肝胰腺、中肠、肌肉和鳃丝固定备用.

1.2 超薄切片的制备

把样品切成 1 mm×1 mm×1 mm, 用 3%戊二醛—福尔马林混合液在 4℃冰箱中保存数天进行前固定, 再用 pH 为 7.2~7.4 的 0.5%~1.0%锇酸后固定 3 h. 经酒精—丙酮递增浓度脱水, 包埋剂和丙酮等量混合液浸透 4 h, Spurr 树脂和 618 环氧树脂包埋, 35、45 和 60℃固化 36 h, 获得的包埋块在 LKB8800 型超薄切片机切得 80 nm 以下的切片, 用醋酸铀和柠檬酸铅双重染色, 在 JEM 1200 EX 和 JEM 100 CX II 透射电镜下观察并拍片.

1.3 光镜样品的制备

部分样品按常规制备石蜡切片, 用 HE 染色, 另一部分样品从树脂包埋块切得 2 μm

^{*} 基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 资助项目; 福建省水产厅资助项目

收稿日期: 1999-09-15

的半薄切片经甲苯胺蓝染色, 在光学显微镜下观察。

2 结果与讨论

2.1 CBV 的分布

作者观察了斑节对虾、日本对虾、长毛对虾、白对虾、脊尾白虾和中国对虾的主要脏器, 仅在中国对虾的某些器官找取了 CBV, 未见其他种类的对虾中有此病毒, 这表明该病毒在对虾种群中的分布有选择性, 并非普遍存在。此外, 在检测的中国对虾的多种类型细胞中, 只有肝、肠上皮细胞 (图 2, 3) 和甲壳下表皮细胞 (图 1) 中有大量的 CBV 聚集, 这提示着 CBV 有着特定的靶细胞。CBV 绝大多数分布在细胞质中, 且以丛状聚集, 未在细胞核中检测到, 但是, 偶尔在扩张的核周间隙出现 (图 4), 不过病毒数量较少, 排列似无规律, 由此推测 CBV 是在胞质中配装和增殖, 应属于质型杆状病毒, 进一步观察 CBV 引起宿主细胞病理变化, 除常见的轻度水肿和部分膜性结构扩张外, 未见特征性的病理变化, 水肿和扩张是生理性反应, 还是病理性变化, 有时难以定论, 前者更为常见, 结合组织学观察, 作者认为 CBV 可能是一种非致病性的病毒。

2.2 CBV 粒子的超微结构

到目前, 未在细胞核质中找到 CBV, 只在胞质 (图 1~3) 和极少数扩张核周间隙中 (图 4) 观测到, 它们在胞质的排列方式很特殊, 一是高度密集, 二是一丛与另一丛彼此垂直, 且有规律间隔开, 所以在一个切面上可以同时看到横切和纵切两种断面 (图 1, 2)。成熟的 CBV 粒子呈现细杆状, 长度为 170~200 nm, 直径仅 44~45 nm, 两端略微钝圆, 中央是一个杆状的高电子密度的核心 (core), 它是由单位膜包裹着核蛋白质 (DNA-protein) 组成的核衣壳 (nucleocapsid), 在横切面上显示较明显 (图 2), 粒子最外面是一层膜性结构的囊膜 (envelope), 其表面光滑无纤突 (projection), 它与核心之间有一狭窄而不均匀的间隙, 中间间隙明显宽于两端, 间隙中无填充物, 故电子透亮 (图 2)。从这些结构特点观察, CBV 具有杆状病毒共同的典型超薄结构特征^[1,2]。偶见数量不少的 CBV 粒子被包裹在一个囊腔中, 囊膜表面光滑, 局部似与其他囊腔连续 (图 3), 其基质低电子密度, 无特殊构型的晶格排列, 也无散在颗粒, 但见膜性残片夹杂其中, 从形态看类似病毒封入体。

综上所述, CBV 具有养殖对虾种群易感性、宿主细胞选择性和超微结构特异性, 应该看成是一种病毒, 目前尚未查到国内外文献有关此病毒的详细报道。Timothy^[3]曾经提到形态与此类似的一种病毒, 他认为“不知名病毒”。作者对 CBV 进行梯度离心纯化, 未获得成功, 用投喂方法进行人工感染试验也未成功, 这可能与该病毒感染密度低, 病毒粒子数量少, 同时又是非致病性有关。

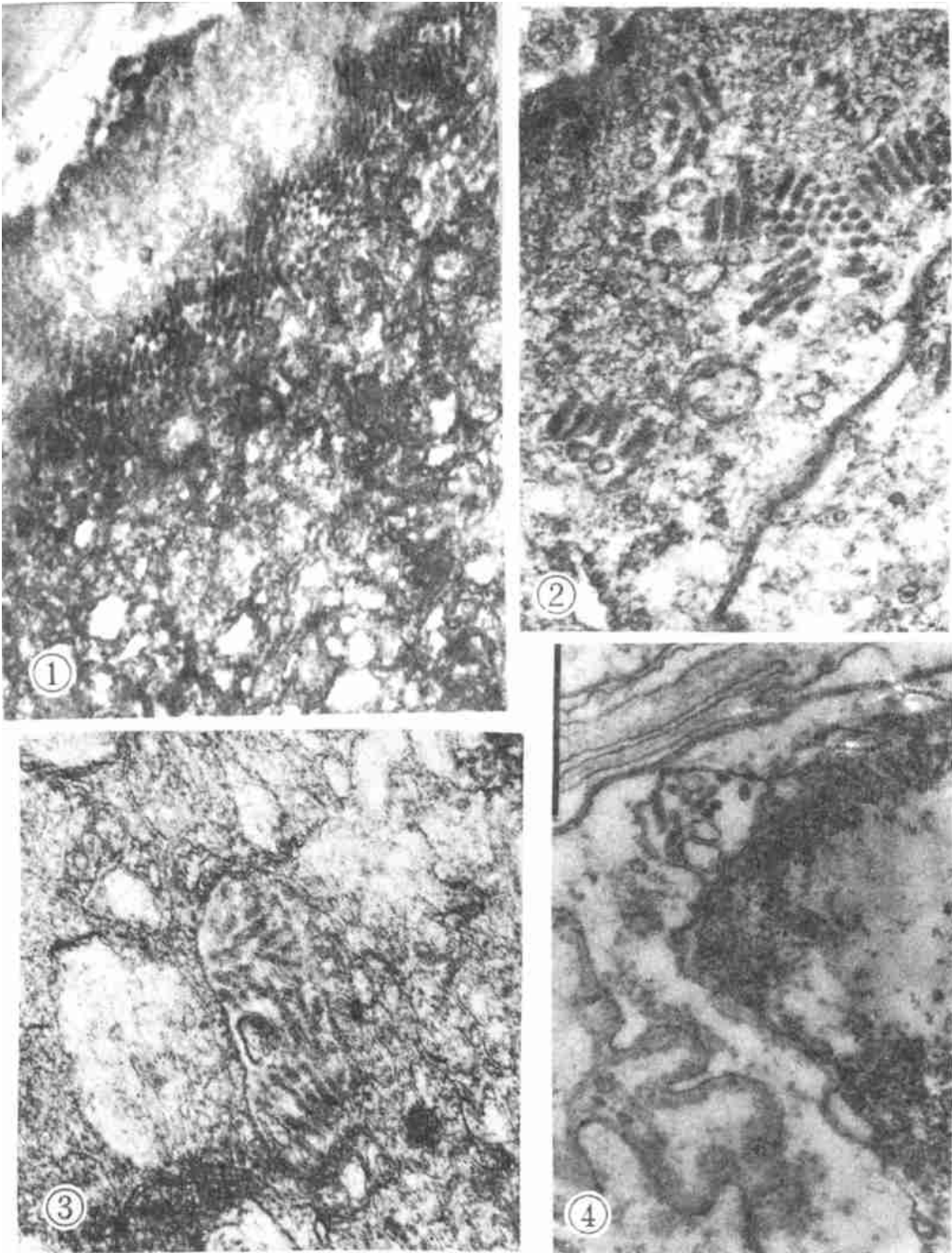


图 1 中国对虾甲壳下表皮细胞质边缘大量 CBV 聚集，各丛粒子成纵横相间排列， $\times 38\,000$

图 2 中国对虾肠上皮细胞质中的 CBV，可见其囊膜， $\times 45\,000$

图 3 中国对虾肝胰腺上皮细胞质中可见一个封入体，
在其透亮的基质中有病毒粒子和膜性残片， $\times 45\,000$

图 4 扩张的核周间隙中散在着 10 多个 CBV 粒子， $\times 4\,000$

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, 1997, 27(5): 415 ~ 420.
- [2] 陈细法, 吴定虎, 黄槐, 等. 草虾杆状病毒的超微结构[J]. 水产学报, 1995, 19(3): 203 ~ 209.
- [3] TIMOTHY W F, DANIEL F F, SUMANA K. Occurrence, diagnosis and treatment of shrimp diseases in Thailand [A]. In: WENDY F. Disease of cultured penaeid shrimp in Asia and the United States[C]. The Oceanic Institute, 1992. 96 ~ 103.

Ultrastructure of A Baculovirus in *P. chinensis*

CHEN Xi-fa^{*}, CHEN Ping, WU Ding-hu, CHI Xin-ai, HUANG Huai

Abstract: With improving technique of ultrathine section of EM, we find large amounts baculovirus and their occlusion bodies in the Cytoplasm of epithelial cells of the hepatopancrea and midgut, superficial cells are *P. chinensis*. These virion with a long of 170 ~ 200 nm and a diameter of 44 ~ 45 nm were obtained. They are composed of envelop and nucleocapsid. The viruses only multiply inside the plasma of target cells, which will form occluded bodies. It is called *Penaeus chinensis* baculovirus (CBV). CBV infection shows no serious ultrastructural changes of target cells.

Keywords: *Penaeus chinensis*; *P. chinensis* baculovirus; ultrastructure

^{*} Xiamen University, Xiamen 361005, China