

文章编号: 0529-6579 (2000) S-0177-03

万氏对虾感染白斑杆状病毒的试验^{*}

杨燕忠¹, 吴松浩¹, 何建国²

(1. 汕头动植物检疫局, 广东 汕头 515041; 2. 中山大学生命科学学院)

摘 要: 用取自发病虾塘的患白斑病斑节对虾为材料, 对健康的万氏对虾 (*Penaeus vannamei*) 进行人工投喂和注射感染. 结果显示: 白斑病的病原白斑杆状病毒可以通过投喂和注射感染健康的万氏对虾, 在 3~5 d 内使受试对虾发生大量死亡, 虾体出现典型的甲壳白斑症状和白斑病特征性组织病理变化, 从病变细胞观察到白斑杆状病毒.

关键词: 万氏对虾 (*Penaeus vannamei*); 白斑杆状病毒; 人工感染

中图分类号: S945.4⁺9 **文献标识码:** A

白斑杆状病毒 (white spot baculovirus, WSBV) 是 1993 年全国对虾暴发性流行病的主要病原, 给许多重要的养殖虾类造成严重损失. 由于白斑杆状病毒至今尚未发现有效的治疗方法和特效药物, 所以人们寄希望于寻找抗病力强的虾种, 以使对虾养殖业能尽快走出低谷. 万氏对虾 (*Penaeus vannamei*, 又称罔纳对虾, 俗称南美白对虾) 是世界 3 大养殖虾种之一, 由于出肉率高, 抗逆性强, 一直是美洲的主要养殖虾种^[1]. 1993 年虾病大流行以来, 沿海各地引种养殖万氏对虾的热情很高, 但由于种苗难于繁殖培育而尚未大面积推广养殖. 为了解万氏对虾抗白斑杆状病毒的能力, 我们进行了该病毒对万氏对虾的人工感染试验, 以为该虾种的引进和大面积养殖推广提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 材 料

万氏对虾采自广东省潮阳市洪洞养虾场, 体长 10 cm 左右, 是从美国引进新虾在汕头市河浦育苗场繁育的子一代养成虾. 采集的万氏对虾在实验室暂养 5 d, 没有发现异常即进行试验. 经组织病理学检查和电镜病毒粒子观察, 证实有白斑杆状病毒感染, 置 -40℃ 保存备用.

1.2 条 件

试验在玻璃水族箱中进行. 采用经沉淀的天然海水, 密度 1.015 kg/L, 每天换水 1/3. 连续打气, 水温 (28±1)℃.

1.3 投喂感染

每组取健康的万氏对虾各 10 尾, 分养于 30 L 的玻璃水族箱中. 对照组每天早晚各投

^{*} 收稿日期: 1999-09-15

喂人工饵料 1 次, 试验组每天早晚各投喂解冻的病虾肉 1 次, 清除残饵和病死虾.

1.4 注射感染

每组取健康的万氏对虾各 10 尾分养于 30 L 的玻璃水族箱中, 试验组每尾对虾于第 2 腹节与第 3 腹节连接处注射病毒提取液 0.1 mL, 对照组每尾注射经消毒的生理盐水 0.1 mL. 各组每天早晚各投喂 1 次人工饵料, 清除残饵和病死虾.

1.5 样品检测

将濒死或刚死亡的虾样及对照组的虾样用 Bouin's 液固定, 按常规进行石蜡包埋, 切片, HE 染色, 光镜检查. 另取虾样用 2.5% 戊二醛液固定, 制作超薄切片在透射电镜下观察并拍照.

2 结 果

2.1 症状及死亡情况

投喂试验组第 3 天开始, 活力降低, 摄食减少, 第 4 天出现死亡, 甲壳易被揭开而不粘连真皮, 甲壳上有数量较多且细小的白斑, 头胸甲白斑数量最多, 尾部甲壳白斑数量次之, 第 6 天出现死亡高峰. 病死虾甲壳上白斑直径约 1 mm, 在光线下呈花朵状. 8 d 内试验虾全部死亡, 病死虾都出现典型的白斑症状. 注射感染组对虾第 3 天出现死亡, 至第 6 天全部死亡, 病死虾出现典型的白斑症状. 投喂对照组和注射对照组对虾一直健康活泼, 基本无死亡.

2.2 组织细胞病理

试验组病死虾的鳃、胃、造血组织和甲壳下表皮等组织器官出现 WSBV 特征性病理变化, 组织结构残缺松散, 呈现出组织坏死状态, 受感染的细胞均发现有典型的核肿大和浓染病变, 核内染色质、核仁消失, 细胞质空泡变性, 细胞形态模糊不清 (图 1).

对照组对虾的组织细胞无这种病变. 电镜观察, 受感染的万氏对虾鳃、胃、甲壳下表皮等病变组织的细胞中发现大量的具囊膜、杆状、无包涵体的 WSBV 粒子 (图 2). 对照组的万氏对虾在其鳃、胃、肝胰脏、造成组织、甲壳下表皮中未检测到病毒粒子, 包抱 WSBV.

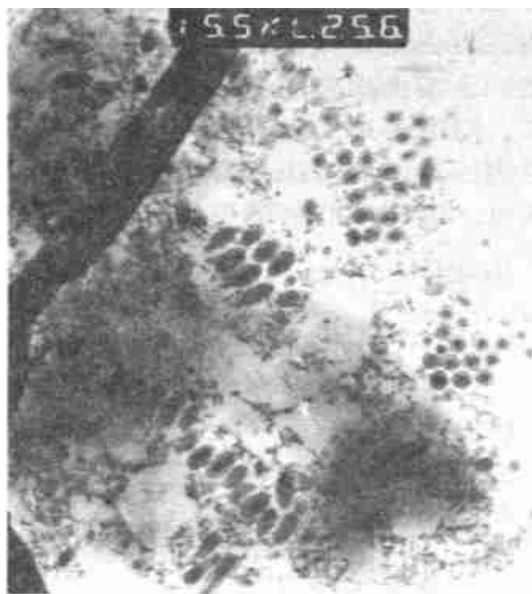


图 1 甲壳表皮细胞和结缔组织细胞受 WSBV 感染细胞核肿大, 甲壳与表皮细胞脱离
× 232

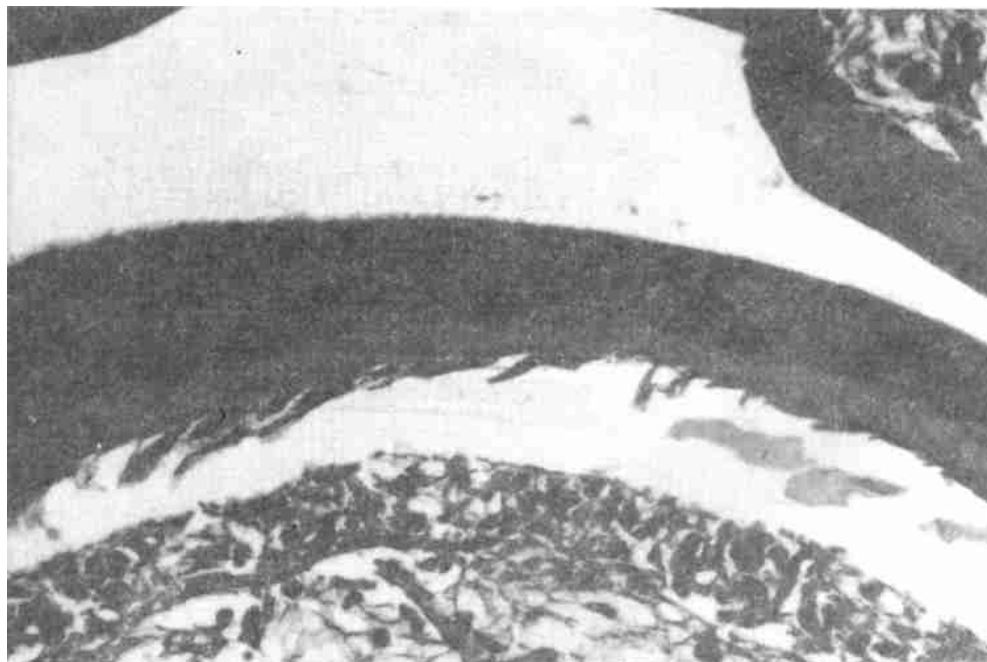


图2 万氏对虾鳃细胞中的杆状病毒 $\times 16\ 100$

3 讨论

(1) 试验结果表明, 万氏对虾能感染白斑杆状病毒而患白斑病造成大量死亡. 人工养殖过程中, 万氏对虾也出现白斑病和非 0—1 群霍乱弧菌病等多种病害, 损失严重. 由此可见, 人们寄希望于外来种以防止疾病流行的愿望难以实现, 要取得万氏对虾养殖的成功, 同样要和其它养殖虾种一样, 做好各项防病工作, 如改善养殖条件, 杜绝传染源, 切断传染途径等.

(2) 万氏对虾是外来种, 极有可能带进我国还没有的病原体, 暴发新的流行病, 使我国的养虾业雪上加霜. 万氏对虾携带有 3 种以上我国大陆沿海地区没有发现的的对虾病毒, 它们是塔拉综合症病毒 (TSV), 淋巴器官空泡化病 (LOVV) 和对虾状病毒 (RPS) 等^[4]. TSV 造成厄瓜多尔塔拉地区 1992 年万氏对虾养殖的惨重损失^[4], 1998 年台湾养殖的万氏对虾也出现塔拉综合症. 由于万氏对虾是 TSV 等多种病毒的携带者, 这些病毒又可感染其他虾种, 所以建议不再引进该虾种, 保护我国已经相当脆弱的养虾业, 避免造成严重的损失. 同时, 对已引进养殖的万氏对虾应加强防病检疫监管, 发现新的疫病应严格隔离消毒, 防止新疫病的扩散传播, 国内地区间引种应严格检疫.

参考文献:

- [1] 苏水全, 刘瑞玉, 陈连兴. 当前我国对虾养殖病害及防治对策[J]. 虾类的健康养殖, 1998, 125~127.
- [2] 何建国, 翁少萍, 邓敏. 等. 斑节对虾白斑病病原与病理[J]. 中山大学学报论丛, 1996(增刊): 12~15.
- [3] 翁少萍, 何建国, 钟慰. 等. 斑节对虾白斑综合症杆状病毒致病性及组织细胞特异性研究[J]. 中山大学学报论丛, 1996(增刊): 16~21.
- [4] 邓敏, 何建国. 对虾病毒研究进展[J]. 中山大学学报论丛, 1996(增刊): 145~157.