

研究简报

# 不同家系的万氏对虾对对虾 杆状病毒抗病力的差异

## DIFFERENCE IN RESISTANCE TO EXPERIMENTAL INFECTIONS WITH *BACULOVIRUS PENAEI* AMONG FAMILIES OF THE WHITE SHRIMP *PENAEUS VANNAMEI*

郑国兴

(东海水产研究所, 上海 200090)

Zheng Guoxing

(East China Sea Fisheries Research Institute, Shanghai 200090)

关键词 对虾杆状病毒, 万氏对虾, 抗毒力, 家系

KEYWORDS *Baculovirus penaei*, *Penaeus vannamei*, resistance, family

对虾杆状病毒 *Baculovirus penaei* (BP) 是 Couch 在墨西哥湾北部自然海区的桃红对虾 *Penaeus duorarum* 中首先发现的[Couch, 1974]。该病毒主要流行于墨西哥湾北部沿岸, 中美洲太平洋沿岸和夏威夷地区, 可危害许多种类的对虾。除了上述桃红对虾外, 该病毒还侵袭墨西哥湾北部的褐对虾 *P. aztecus* 和白对虾 *P. setiferus*, 中、南美洲太平洋沿岸地区的万氏对虾 *P. vannamei*、蓝对虾 *P. stylirostris*、长毛对虾 *P. penicillatus*、许氏对虾 *P. schmitti*、*P. paulensis*、*P. subtilis*、缘沟对虾 *P. marginatus* 和加洲对虾 *P. californiensis* 等十余种[Lightner 1988; Siqueira Bueno 等, 1990]。该病毒是典型的杆状病毒, 双股 DNA 型, 核衣壳外具包膜, 主要侵害对虾的肝胰腺和前中肠, 在上皮细胞核内繁殖, 可在核内形成一个到数个金字塔形(四面体)的包含体。被感染的细胞核显著肥大, 核仁退化或消失, 染色质减少, 核膜增生, 最终使宿主细胞破裂或解体。这种流行病对虾幼体的危害极大, 在 24 至 48 小时内, 可使死亡率几乎达到 100%。对桃红对虾 *P. duorarum* 和缘沟对虾 *P. marginatus* 幼虾, 疾病的表现是亚急性型的, 被感染的对虾在 4—8 周内死亡 50% 以上[Lightner, 1988]。

有关鱼类遗传因子与疾病抗病力的关系, 国外学者已有广泛的研究[Chevassus 和 Dorson, 1990; Price, 1985], 国内也有些报道[蔡完其、孙佩芳, 1992; 蔡完其、胡静珍, 1993]。研究表明鱼类种间, 种群间和种群内对疾病抗病力都有显著差异, 鱼类学家们还探讨了产生这些差异的机理, 并利用它进行鱼类育种, 选育出高抗病力的养殖品种。除褐对虾 *P. aztecus* 与对虾杆状病毒敏感性的关系[LeBlanc 等, 1991], 对虾杆状病毒与万氏对虾 *P. vannamei* 年龄的关系[LeBlanc 和 Overstreet, 1990]等文外, 有关对虾对对虾杆状病毒抗病力关系的报道并不多见。本文旨在阐明不同家系的万氏对虾 *P. vannamei*

对对虾杆状病毒抗病力的差异,为选育高抗病力的品系提供科学依据。

## 一、材料与方 法

本试验是在美国海湾沿岸研究室进行的,试验用对虾杆状病毒为该实验室保存的高毒力病毒株,原病毒分离自野生和池养的万氏对虾。以后在实验室中,通过人工感染方法,在孵化万氏对虾的幼体中大量繁殖后,再将带病毒的幼体存于 $-70^{\circ}\text{C}$ 的超低温冰箱中备用[Overstreet等,1988]。试验开始时,先在九小瓶冰冻的带病毒的万氏对虾幼体(每小瓶均含幼体100尾)中,分别添加1—2毫升30%的海水,解冻后用组织匀浆仪研碎幼体。然后将带病毒的匀浆物作为饵料,投饲经26小时孵化后的卤虫 *Artemia franciscana* 幼体,2小时后,再将卤虫连同剩余的含病毒材料均匀分为九份,分别对不同家系的万氏对虾进行口服人工感染试验(同一天,喂两次)。

试验用万氏对虾是美国夏威夷海洋研究所孵化并确认不带病原的健康虾苗,编码为1、1、2和1、2、2(种群、家系、代)。有关试验用虾的家系编号,交配状况及年龄如下:

家系编号	交配状况	年 龄
I	琼斯♀ × 史密斯♂	幼体后12天(PL 12)
II	琼斯♀ × 琼斯♂	幼体后12天(PL 12)
III	史密斯♀ × 琼斯♂	幼体后10天(PL 10)
IV	史密斯♀ × 史密斯♂	幼体后10天(PL 10)

各试验组的虾苗(每组100尾)饲养在38升的玻璃水族箱中,海水盐度为30‰,水温控制在 $24^{\circ}\text{C}$ — $26^{\circ}\text{C}$ ,充氧,过滤,但不换水。饵料是孵化24—36小时的卤虫幼体,每日投喂两次。试验10天后,增饲商品配合饲料。各家系组设三个重复组和一个在实验条件相同,不进行病毒攻击的对照组。

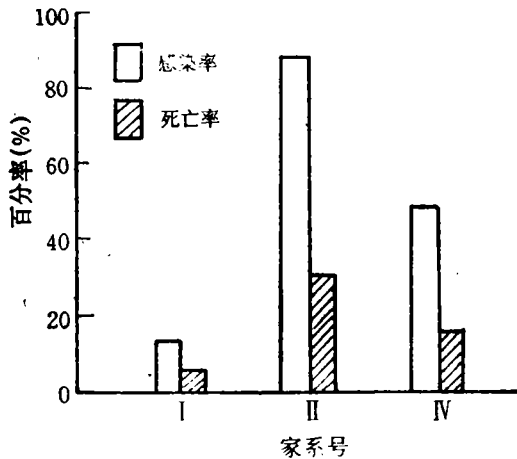
在人工感染试验开始后的第5、10和15天,分别从各试验组中随机取出对虾10尾,逐个将肝胰腺制成新鲜组织压片,置显微镜下观察肝胰腺组织中是否出现金字塔形的病毒包含体,并记录其感染程度。当在肝胰腺组织中仅能发现少数几个病毒包含体时为轻度感染(+),在肝胰腺组织中到处可见大小不等数十个病毒包含体时为严重感染(+++),病毒包含体在10数个时为中度感染(++)。肝胰腺新鲜组织压片的制作方法是:在载玻片上,放上被检活虾苗,在解剖镜下,用两只尖头小镊子,分别轻轻地夹住小虾的头胸部前端(触角和眼柄基部)及腹部4、5节处,小心地向外用力,使头胸部与腹部分离。此时肝胰腺受肠道牵带,会脱离头胸甲,随腹部拉出体外。然后尽量完整地夹出肝胰腺,滴少量水,盖上盖玻片,将肝胰腺压扁至薄膜状,即可用于镜检。

## 二、结 果

在虾苗从夏威夷运到实验室的第二天,由于管理不善,饲养密度过高,水质出现异常,家系III(史密斯♀ × 琼斯♂)全部夭亡,未能进行病毒感染试验。其它三个家系对BP敏感性试验表现出明显差异(见表1和图1)。家系I(琼斯♀ × 史密斯♂)对BP的感染率在三个家系中最低,感染试验开始后的第5、10和15天三次抽样检查的结果分别是13.3%,10.0%和16.7%,三次平均为13.3%。在所有被检样品中,除了第15天检查的30尾虾中有2尾被严重感染外,其余被感染的样品均为轻度到中度感染。家系II(琼斯♀ × 琼斯♂)感染率最高,感染后第5、10和15天的抽样检查结果分别高达86.7%、80.0%和96.7%,三次检查的平均值是87.8%,被感染的虾大多为中度与严重感染。家系IV(史密斯♀ × 史密斯♂)对BP的感染率高于家系I而低于家系II,介于两家系之间。感染试验开始后的第5天,抽样检查的感染率为62.2%,第10和第15天的检查结果分别是46.7%和33.3%,三次检查的平均值是47.7%。被感染的程度,除一例发现为严重感染外,其余都是轻度和中度感染,与家系I相似,而显著低于家系II。

表1 不同家系的万氏对虾(*P. vannamei*)对BP抗病力的比较Table 1 Comparison of resistance to BP infections in *P. vannamei* exposed at different families

家系号	感染后天数	随机取样检查数(尾)	感染虾数(尾)	感染率(%)	死亡率(%)
I (琼斯♀ × 史密斯♂)	5	30	4	13.3	—
	10	30	3	10.0	—
	15	30	5	16.7	4.8
II (琼斯♀ × 琼斯♂)	5	30	26	86.7	—
	10	30	24	80.0	—
	15	30	29	96.7	30.5
IV (史密斯♀ × 史密斯♂)	5	30	19	63.3	—
	10	30	14	46.7	—
	15	30	10	33.3	15.2

图1 不同家系的万氏对虾(*P. vannamei*)对对虾杆状病毒的感染率与死亡率之比较Fig. 1 Comparison of mortality and susceptibility to BP infections in *P. vannamei* exposed at different families

在三个家系对照组的第5、10和15天的三次抽样检查中,无一尾发现金字塔状的病毒包含体。

在感染试验后的第15天,分别对三个家系的死亡率作了统计,其结果也有明显差异(见表1和图1)。家系I的死亡率最低(4.8%),其次是史密斯家系(家系IV)的死亡率(15.2%),琼斯家系(家系II)死亡率最高(30.5%)。这一结果与三个家系对BP感染率的结果十分吻合。三个家系对照组的虾,活动、摄食正常,死亡率低。家系I(琼斯♀ × 史密斯♂)无死亡;琼斯家系(II)和史密斯家系(IV)的死亡率分别为1.4%和2.9%。

### 三、讨 论

自1974年 Couch 首先在墨西哥湾北部自然海区的桃红对虾 *P. duorarum* 中发现对虾杆状病毒以后,在其它许多种对虾中相继发现该病毒,至目前已知宿主至少有13种之多。但是,并非对虾属中的所有种类对BP都敏感,根据 Lightner 的报道,在已知宿主中,对虾杆状病毒对桃红对虾 *P. duorarum*、

褐对虾 *P. aztecus*、万氏对虾 *P. vannamei* 和缘沟对虾 *P. marginatus* 可造成严重危害 [Lightner, 1988]。根据 Overstreet 和 Howse 的多年调查,未发现美国密西西比河口的白对虾 *P. setiferus* 被 BP 感染现象,而同一地区的某些褐对虾 *P. aztecus* 却表现受到 BP 轻度到中度感染的症状 [Overstreet 和 Howse, 1977]。在实验室,对不同种对虾口服对虾杆状病毒的人工感染试验,也得出相似的结果。在人工感染试验的褐对虾 *P. aztecus* 中有 25% 被 BP 感染了,而同时进行感染试验的白对虾 *P. setiferus* 却无一受害,这表明不同种对虾,对 BP 的抗病力有显著差异,即与它们的遗传因子有着密切的关系 [LeBlanc 等, 1991]。

对虾杆状病毒对幼体造成的危害最大,是中、南美洲太平洋沿岸地区对虾育苗期间的严重疾病之一。疾病表现急性,在 24—48 小时内可使 100% 幼体死亡。根据 Overstreet 等人对万氏对虾 *P. vannamei* 幼体的人工感染试验,通常能使 100% 的幼体受到中度至严重感染。但不同年龄的对虾对 BP 的敏感性有显著差异,随着年龄的增大,对 BP 的敏感度逐渐降低。幼体后 3 天 (PL3) 的虾苗对病毒的敏感性极高,可达 100%。幼体后 30 天 (PL30) 和 42 天 (PL42),感染率明显下降,分别为 30% 和 42%。而日龄 120 天 (PL120) 和 157 天 (PL157) 成虾的感染率只有 10% 和 20% [LeBlanc 和 Overstreet, 1990]。

对不同家系的万氏对虾 *P. vannamei* 对 BP 抗病力的试验证明:不同家系的对虾对 BP 的抗病力有显著差异,非同系婚配培育的后代(家系 I, 琼斯♀ × 史密斯♂),其抗病力和存活率远比同系婚配的后代(家系 II, 琼斯♀ × 琼斯♂; 家系 IV, 史密斯♀ × 史密斯♂) 高。但两个同系交配繁殖的家系,其抗病力和死亡率也有显著差异,琼斯家系 (II) 对 BP 的感染率和死亡率约高出史密斯家系 (IV) 一倍。本研究表明,对虾的抗病力与遗传因素有着密切的关系。对虾与自然界其他生物一样,近亲繁殖的后代,生命力弱,甚至会产生许多缺陷,远亲繁殖的后代,生命力强,能产生许多优势。因此,在培育虾苗时,应运用遗传学的原理,注意亲虾的选择,尽量避免近亲繁殖,并通过不同家系的杂交和选择,培育出抗病力强的优良养殖品种。

本项研究工作受到美国海湾沿岸研究实验室 (The Gulf Coast Research Laboratory) 的 R. M. Overstreet 博士和 Charles Acosta 先生的热心指导与帮助,特致谢意。

## 参 考 文 献

- [1] 蔡完其、孙佩芳, 1993. 三种鲫鱼对暴发性鱼病的抗病力. 水产学报, 17(1): 44—51.
- [2] 蔡完其、胡静珍, 1992. 团头鲂、鳊及其正反杂交种对暴发性鱼病的抗病力比较和发病机理的初步探讨. 水产科技情报, 19(1): 6—9.
- [3] Chevassus, B. and M., Dorson, 1990. Genetics of resistance to disease in fishes. *Aquaculture*, 85: 83—107.
- [4] Couch, J. A., 1974. An enzootic nuclear polyhedrosis virus of penaeid shrimp: ultrastructure, prevalence and enhancement. *Journal of Invertebrate Pathology*, 24: 311—331.
- [5] LeBlanc, B. D. and R. M., Overstreet, 1990. Prevalence of *Baculovirus penaei* in experimentally infected white shrimp (*Penaeus vannamei*) relative to age. *Aquaculture*, 87: 237—242.
- [6] LeBlanc, B. D. et al., 1991. Relative susceptibility of *Penaeus aztecus* to *Baculovirus penaei*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 22(3): 173—177.
- [7] Lightner, D. V., 1988. BP (*Baculovirus penaei*) virus disease of penaeid shrimp. In: C. J. Sindermann and D. V. Lightner editors. *Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture*. pp. 16—21. Elsevier, Amsterdam.
- [8] Overstreet, R. M. and H. D., Howse, 1977. Some parasites and diseases of estuarine fishes in polluted habitats of Mississippi. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 298: 427—462.
- [9] Overstreet, R. M. et al., 1988. Experimental infections with *Baculovirus penaei* in the white shrimp *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda) as a bioassay. *Journal of the World Aquaculture Society*, 19

(4): 175—187.

- [10] Price, D. J., 1985. Genetics of susceptibility and resistance to disease in fishes. *Journal of Fish Biology*, 26: 509—519.
- [11] Siqueira Bueno, S. L. *et al.*, 1990. *Baculovirys penaei* infection in *Penaeus subtilis*: a new host and a new geographical range of the disease. *Journal of the World Aquaculture Society*, 21: 235—237.