

文章编号: 1000- 0615(2004) 05- 0547- 07

栉孔扇贝大规模死亡致病病原的研究

王崇明¹, 王秀华¹, 艾海新^{1, 2}, 李 赞², 贺桂珍², 黄剑宇^{1, 2}, 宋微波²

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室, 山东 青岛 266071;
2. 中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003)

摘要: 对 2000- 2002 年山东沿海 6 个疫区患病栉孔扇贝进行电镜观察, 在消化腺、外套膜、肾和肠的结缔组织细胞和间质细胞中发现一种球形病毒, 并引起相应的病理学变化。该病毒具囊膜, 直径为 130~ 170nm, 核衣壳直径为 90~ 140nm。病毒分离纯化后, 观察到的病毒囊膜表面覆有长 20nm 的纤突。病毒在细胞质中的囊泡样结构内完成装配, 其内未发现包涵体存在。从发病疫区栉孔扇贝组织中分离出病毒毒种对健康扇贝进行人工感染。结果显示, 各感染实验组发病扇贝表现出与自然海区发病扇贝相同的临床症状。病毒注射组死亡率为 75%, 病毒浸浴组死亡率为 68.7%, 灭活病毒注射组和空白对照组死亡率皆为 12.5%。病毒注射、浸浴组与灭活病毒注射组、空白对照组死亡率差异显著。电镜复检结果显示, 各感染实验组发病扇贝组织中分布有大量病毒粒子, 与自然海区发病扇贝组织所观察到的病毒粒子在形态特征和病理学特征上完全一致。以上结果证明, 病毒是导致栉孔扇贝大规模死亡的直接病原。

关键词: 栉孔扇贝; 大规模死亡; 球形病毒; 病理学观察; 人工感染实验; 病原

中图分类号: S941.41

文献标识码: A

The viral pathogen of massive mortality in *Chlamys farrei*

WANG Chong-ming¹, WANG Xi-hua¹, AI Hai-xin^{1,2}
LI Yun², HE Gui-zhen², HUANG Jian-yu^{1,2}, SONG Wei-bo²

(1. Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resource, Ministry of Agriculture,
Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Qingdao 266071, China;

2 Key Laboratory for Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: The scallop, *Chlamys farrei*, is one of the major species cultured in North China, and its culture in commercial scale has been performed for more than 20 years. The highest production of about 1 million metric tons has been achieved in 1996. The great expansion and intensification induced the occurrence of disease since 1990's, and became epizootics from 1997. It is believed that the disease so called 'Scallop Acute Viral Necrotic Disease' (SAVND) has becoming the major limiting factor in the development of the industry, and has hindered the economic process in the coast area of the region. The earlier investigation from our research group showed that the disease occurred in the second-year-old scallops, which had an averaged shell height of 5.0 ± 0.9 cm in Jiaozhou Bay. The mortality firstly occurred in the early July and peaked in the end of the month, as the temperature reached the highest period (25- 26.7°C) in the year. Subsequently, the disease subsided in the early August and the cumulative mortality could be above 90%. In most cases, the morbidity was acute and the course

收稿日期: 2003-06-09

资助项目: 国家重点基础研究规划项目(G1999012001)

作者简介: 王崇明(1962-), 男, 山东青岛人, 副研究员, 主要从事海水养殖动物病害研究。Tel: 0532- 5823062, E-mail: aqulis@

public.qd.sd.cn

of disease was only about one week.

In order to make sure the main pathogen of this disease, an intensive investigation was undertaken recently. Firstly, this paper is to report histopathological and microbiological evidence of the cultured scallop on a diseased condition, and described a possible virus-like etiology causing the massive death of the scallop. Electron microscopic examinations of ultrathin sections reveal the presence of spherical virus-like particles in the digestive gland, mantle, kidney, and the intestine of moribund scallop *Chlamys farreri* collected from 6 epidemic areas during a severe mortality on the coast of Shandong (China) in 2000–2002. Relevant pathologic change can be observed. Virions are approximately 130 to 170 nm in diameter and have a bilaminar envelope, while the nucleocapsids are 90–140 nm. Spike of envelope, observed by negative stain after isolation and purification, are 20nm in length. The virus occurs and assembles in the cytoplasmic vesicles without occlusion.

Next, artificial infective experiments and back-check of infective samples were taken to confirm whether the scallop disease was aroused by the virions. Artificial infective experiments of healthy scallop were carried out by injection and by waterborne of viral preparation isolated from moribund scallop of epidemic area. The results showed that the injection and waterborne administration had high mortality of 75% and 68.7%, respectively. Meanwhile, the control had 87.5% survival rate. The symptom appeared after artificial inoculation was similar to those shown by diseased scallop under natural conditions. Moreover, the virions could be detected in infected cell of diseased scallop in the infective experiment by electron microscopy, in which the morphological and pathological characters were identical with those formed in diseased scallop under natural conditions. These results strongly support the conclusion that virus is the causative aetiology for the abnormal mortality.

Key words: *Chlamys farreri*; massive mortality; spherical virus; pathological observation; artificial infective experiment; pathogens

栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)是我国北方沿海重要的经济贝类之一,形成规模化养殖已有20年的历史并产生了巨大的经济效益。随着养殖业的迅速发展,病害问题日趋严重。自1997年以来,在北方养殖海区,已连续几年发生了栉孔扇贝大规模死亡,给扇贝养殖业造成了重大损失,不仅极大地阻碍了这一产业的持续发展,甚至直接威胁到现有产业的生存。有关资料表明,1997–1998年,仅山东省因扇贝大规模死亡而造成的直接经济损失就达40亿元。围绕这一大规模死亡现象国内相关研究人员分别从生态学、遗传学、病原学及养殖技术等多个角度对发病的原因开展了探索与研究^[1–5]。

自2000年起,对山东半岛主要栉孔扇贝养殖海区开展了系统的病原学和流行病学调查。通过病贝组织超薄切片的电镜观察,在采自6个疫区病害高发期的濒死扇贝体内发现大量同一种球形病毒样颗粒的寄生,且伴有受感染组织的广泛坏死。在此基础上,进一步完成了该病毒粒子的分离和纯化。为证实病毒的致病性,又开展了人工感染实验以及复检验证工作。目前所取得的结果

显示,球形病毒是导致栉孔扇贝大规模死亡的直接病原。现将有关结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 样品采集

结合流行病学调查,在栉孔扇贝爆发性死亡的高峰期(7–8月),分别对山东半岛的日照、胶南、青岛、荣成、威海、长岛等6个疫区10余个养殖海区濒死的栉孔扇贝进行样品采集。每个采样点随机采集20只濒死扇贝,低温条件下(将扇贝装入盛有冰块的保温箱内)运回实验室。同时现场观察发病扇贝临床症状,记录存活、濒死及死亡扇贝的数量,测量养殖海区温度、盐度、溶解氧以及pH等理化因子。

1.2 电镜超薄切片的制备

将扇贝一侧的贝壳去掉,用眼科镊和眼科剪解剖贝体。分别取外套膜、消化腺、肠、肾、鳃、闭壳肌以及生殖腺等器官,切成1mm³小块,用2.5%戊二醛和1%锇酸双固定,系列乙醇脱水,Epon 812渗透包埋,Ultracut-E型超薄切片机切片,经醋酸铀和柠檬酸铅双染色后,于JEM—

1200EX 电镜下观察并摄影。

1.3 病毒分离纯化与电镜负染观察

去掉扇贝壳, 剔除性腺和闭壳肌, 其余组织混合称重, 按 1: 10 比例加入 TEN 缓冲液 ($0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl, $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA, $0.4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl, pH7.8); 以 FHX-1 型高速分散器 $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 冰浴研磨匀浆; 匀浆液于 4°C 3500g 离心 20min, 取上清液, 以 TEN 重悬沉淀物, 反复离心 2~3 次; 弃沉淀, 合并上清液, 加入蔗糖配制终浓度为 25% (w/w) 的蔗糖垫, 于 4°C 45 000g 离心 1.5h, 弃上清, 以 TEN 重悬沉淀物; 以 TEN 配制蔗糖梯度 (30%、35%、40%、45%、50%、55%, w/w), 加铺上述重悬液于离心管管顶。于 4°C 125 000g 离心 4h, 收取蔗糖梯度中乳白色或浅褐色沉淀带, 以 TE ($0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-HCl, $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA, pH 7.8) 稀释; 于 4°C 45 000g 离心 1.5h 去除蔗糖, 以 TE 重悬沉淀物, -70°C 保存备用。

取纯化后的病毒重悬液, 滴加在载玻片上, 将覆有 Formvar 碳膜的铜网反扣在病毒悬液上, 5min 后, 取下铜网, 晾干。滴加 2% 的磷钨酸负染 5min, 用滤纸吸去多余的染液, 室温风干, 于 JEM-1200EX 电镜下观察并摄影。

1.4 人工感染实验

实验材料和日常管理 栉孔扇贝取自中国海洋大学太平角实验基地, 壳高 4.5~6.5cm。扇贝放入水槽内暂养 15d, 取暂养存活扇贝供作感染实验。每天投喂螺旋藻粉 1 次, 换水、吸污各 2 次, 换水率 80%, 连续充气。实验海水温度控制在 $23\sim 25^\circ \text{C}$ 。每天观察扇贝活动情况, 对于活力较差、具典型发病症状的濒死个体及时取出, 并作实验记录。

毒种制备 取 20 只病贝, 去掉贝壳, 剔除性腺和闭壳肌, 其余组织混合称重, 2% 灭菌生理盐水洗 3 遍, 按 1: 10 比例加入 2% 灭菌生理盐水, 以 FHX-1 型高速分散器 $4 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 冰浴研磨匀浆 1min。将上述组织匀浆液于 4°C 下 1 000g 离心 30min, 取上清液加入抗生素, 用量参照文献 [14], 作为病毒毒种母液, 病贝组织含量为 $100 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

毒种母液稀释 100 倍作为病毒浸浴毒种液; 毒种母液依次以 $2\mu\text{m}$, $0.8\mu\text{m}$, $0.45\mu\text{m}$, $0.22\mu\text{m}$ 滤膜过滤, 滤膜过滤液作为病毒注射毒种液; 滤膜过滤液于 65°C 水浴 30min 灭活病毒后, 作为灭活病

毒注射毒种液。

感染方法 采用闭壳肌注射和浸浴两种方式进行感染, 经预实验注射扇贝存活 2d 以上为安全剂量。注射组每只注射 100 μL ; 浸浴组以病毒浸浴毒种液浸浴 4h 后, 吸去浸浴毒种液, 加入海水。感染实验分 4 组进行: (1) 病毒浸浴; (2) 病毒注射; (3) 灭活病毒 (65°C 水浴 30min) 注射; (4) 空白对照。每组平行设两个 50L 的水槽, 每槽 8 只扇贝。

病原复检 取各感染组发病扇贝以及对照组扇贝组织, 用 2.5% 戊二醛磷酸缓冲液固定, 电镜超薄切片的制作参照材料与与方法见 1.2, 于 JEM-1200EX 电镜下观察并摄影。

2 结果

2.1 流行特点与临床症状

各疫区现场调查结果显示, 栉孔扇贝大规模死亡发生在养殖中后期, 即较高水温期间 ($23\sim 25^\circ \text{C}$); 死亡个体集中在 2 龄贝; 时间上由南及北的传染病样波及 (7~8 月); 具流行性、暴发性及极高的死亡率 (短期内常达 90% 以上); 病程较短, 一般持续 1~2 周。

患病扇贝外观症状主要表现为贝壳开闭缓慢无力, 对外界刺激反应迟钝。病贝足丝脱落, 失去固着作用。去掉贝壳发现外套腔内分泌物增多, 积有少量淤泥, 消化腺轻微肿胀, 肾脏易剥离, 外套膜向壳顶部收缩, 外套眼失去光泽。患病严重的扇贝鳃丝轻度糜烂, 肠道空或半空。病贝的软体部无脓疱及其它明显的病灶, 炎症反应不明显。出现上述症状 2~3d 后扇贝很快死亡, 死亡率在 90% 以上。

2.2 电镜观察结果

细胞病理学观察显示, 除生殖腺、闭壳肌外, 消化腺、外套膜、肾、肠组织都有程度不同的病理变化。病灶主要出现在各器官的间质组织细胞与结缔组织细胞, 其间分布有大量病毒粒子并伴有受感染组织的广泛坏死现象。

细胞的病理变化 病毒感染的组织细胞, 细胞核变形, 异染色质浓缩并集于核膜内侧, 核仁溶解, 核膜周隙扩张或不清晰 (图版-1)。细胞器病理变化明显, 线粒体肿大, 嵴变短、减少甚至仅存残迹或消失 (图版-2), 基质变稀薄, 电子密度降低以及出现空泡 (图版-3)。内质网扩张, 核蛋白

体颗粒脱落,甚至形成同心性排列的结构,亦即髓鞘样小体(图版-3)。细胞浆内充满大小不等的膜界性空泡(图版-4),严重时细胞器消失,形成大片均质无结构的空白区域,仅剩裸露膨大的细胞核,整个细胞出现解体现象(图版-5)。

病毒粒子的超微结构与发生基质 病贝组织超薄切片电镜观察显示,在消化腺、外套膜、肾以及肠的结缔组织细胞与间质细胞中分布有大量的病毒粒子(图版-6,7)。该病毒粒子近似圆形,具有囊膜,囊膜内可见均匀的高电子密度的核衣壳(图版-8)。完整的病毒粒子直径为130~170nm,核衣壳直径为90~140nm,囊膜厚约7~10nm,囊膜与核衣膜之间的间距为13~16nm。病毒粒子多以团聚的方式存在于结缔组织的细胞质内,核内未见分布。许多病毒粒子聚集成“簇”被双层质膜所包被,形成有别于胞质细胞器的囊泡样结构,其内分布有不同装配期的病毒粒子、空衣壳以及病毒装配材料,未见以特定晶格方式排列的蛋白基质。囊泡样结构形态多变、大小不一,是病毒增殖的主要场所。

电镜负染观察到的病毒粒子与透射电镜观察

到的病毒粒子在形态、大小方面基本相同,明显差别是病毒囊膜表面具有放射状的蛋白突起(病毒囊膜纤突)。病毒粒子呈球形具囊膜,直径120~150nm,囊膜表面覆有长20nm的纤突,囊膜纤突致密地镶嵌成规则的毛边样(图版-9)。

2.3 人工感染实验结果

病毒注射组扇贝感染实验第3天开始死亡,死亡率达75%,半数死亡时间为9~10d;病毒浸浴组扇贝感染实验第3天开始死亡,死亡率为68.7%,半数死亡时间为11~12d;灭活病毒注射组和空白对照组死亡率皆为12.5%。病毒注射、浸浴组死亡率与灭活病毒注射组、空白对照组死亡率有显著差异(图1)。

感染实验病贝表现出与自然海区病贝相同的临床特征。在病毒注射组、病毒浸浴组发病扇贝的电镜超薄切片中普遍发现形态相同的病毒粒子(图版-10),与自然海区发病扇贝组织所观察到的病毒粒子的形态特征和病理学特征完全一致。在灭活病毒注射组与空白对照组扇贝中未观察到病毒粒子。

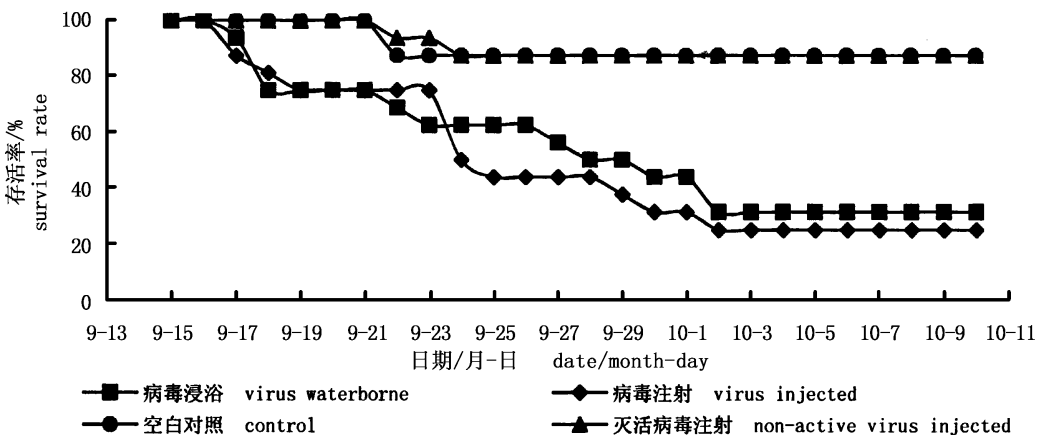


图1 栉孔扇贝病毒感染实验

Fig. 1 The virus infective experiment of *Chlamysfareri*

3 讨论

2000年和2001年夏季,在栉孔扇贝发生大规模死亡高峰期,通过对6个疫区10余个养殖水域濒死扇贝个体病理学观察,在包括肝胰腺、外套膜、肾、肠在内的各组织器官中发现分布有大量形态一致、大小相当的病毒粒子。该病毒呈球形、具

囊膜及纤突,直径130~170nm。病毒在细胞质内装配成熟,细胞核内未见分布。发生基质以囊泡样结构的形式存在于结缔组织细胞和间质细胞中,其内未发现包涵体存在。有关扇贝病毒病的研究,国内外报道文献较少。Arzui等^[6]在大扇贝(*Pecten maximus*)幼体结缔组织细胞核和细胞质中发现具囊膜、呈球形或多角形、直径110nm的

病毒粒子, 经 PCR 检测和 DNA 序列分析, 证明该病毒属于一种疱疹病毒 (ostreid herpesvirus-1), 人工感染实验表明该病毒可感染健康的大扇贝和太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 幼体。本文所报道的病毒, 由于其核酸特性、结构多肽的研究尚未完成, 分类地位难以确定, 但病毒的形态、大小、囊膜微细结构 (纤突) 以及发生基质等与 Arzui 等报道的病毒明显不同。

病毒的直接致病作用就是引起宿主细胞发生病理变化, 病毒感染宿主细胞后, 利用宿主细胞酶类和能量合成系统, 借助其生物合成机构复制、合成病毒自身的核酸以及蛋白质, 结果必然造成感染细胞的病变坏死, 并使机体正常的代谢功能发生障碍或停止, 从而最终导致宿主的死亡。本文在濒死扇贝个体内观察到的一系列病理变化正是病毒感染扇贝后所造成病变的具体表现, 这一结果揭示了病原与病理的对应关系, 同时也提示病毒的感染以及因病毒感染而引起的相应病理变化与扇贝大规模死亡具有明确的相关性。

就病原学而论, 仅在宿主中发现某种病毒的寄生, 但缺乏病毒回接感染实验并在发病宿主中发现同一种病毒, 尚不能完全说明病毒与疾病流行的对应关系, 即没有完成病原学所需要的 Koch 法则。本文所开展的人工感染实验结果表明, 不论是病毒浸浴组还是病毒注射组的发病扇贝均出现了与各疫区自然发病扇贝相同的临床症状; 病毒各感染组与对照组死亡率差异显著。各感染组发病扇贝病原复检结果显示, 病贝组织中广泛存在一种球形病毒, 其形态特征、感染的靶的组织、病理学特征与自然海区发病扇贝中的病毒粒子特征完全一致; 个别死亡的以及健康的对照组扇贝未观察到病毒的存在。

有关扇贝大规模死亡致病病原的研究, 已引起相关学者的广泛关注。王文兴等^[3]、王运涛等^[5]报道了在海湾扇贝 (*Argopecten irradians* Lamarck)、栉孔扇贝体内发现有类衣原体 (chlamydia-like organisms, CLO) 和类立克次体 (ricketsia-like organisms, RLO) 的寄生, 但仅限于病理学的观察与分析, 尚未进行回接感染试验。刘英杰等^[7]、贺桂珍等^[8]、艾海新等^[9]根据两周年的流行病学调查与分析、病理学观察以及多个批次的人工感染实验的结果, 表明在整个调查期间, RLO 对栉孔扇贝的感染率和感染强度与水温及

栉孔扇贝死亡率呈负相关关系。RLO 虽可感染栉孔扇贝, 但并不引起明显的组织病理变化。进一步的人工感染实验的结果表明, RLO 感染的死亡率与对照组的死亡率差异不显著。

与本研究同步开展的流行病学调查资料显示^[10], 7~8月山东各主要扇贝养殖海区的栉孔扇贝均发生大规模死亡现象。病理学及病原学的研究结果发现^[11,12], 一种直径为 150nm 左右、具有囊膜的球形病毒在发病高峰期的感染率及感染强度最高。本研究感染实验的结果进一步证实, 病毒的感染是造成栉孔扇贝死亡的直接原因。这些研究结果皆表明, 该球形病毒极可能是导致各养殖海区栉孔扇贝大规模死亡的主要病原, 我们支持宋微波等^[13]提出的观点, 即栉孔扇贝大规模死亡是由急性病毒性坏死症病毒 (acute virus necrobiotic disease virus AVNDV) 所致。

参考文献:

- [1] Guo F, Cui Y, Song Y L, *et al.* Investigation on environmental pollution of *Chlamyfareri* in culture waters of Shijiu in summer [J]. Marine Environmental Science, 2000, 19(2): 19- 21. [过锋, 崔毅, 宋云利, 等. 日照石臼扇贝养殖水域夏季环境调查分析[J]. 海洋环境科学, 2000, 19(2): 19- 21.]
- [2] Yu R H, Wang R C, Tian Ch Y, *et al.* Discussion on the high mortality and its prevention in scallop, *Chlamyfareri* [J]. Trans Ocean Limnol, 1998, (3): 69- 72. [于瑞海, 王如才, 田传远, 等. 栉孔扇贝大面积死亡的原因分析及预防探讨[J]. 海洋湖沼通报, 1998, (3): 69- 72.]
- [3] Wang W X, Luo W T, Xue Q G, *et al.* Pathological research on Chlamydia-like organisms in the hepatopancreatic gland of the bay scallop, *Argopecten irradians* (Lamarck) [J]. Mar Sci, 1998, (3): 23- 25. [王文兴, 罗挽涛, 薛清刚, 等. 海湾扇贝消化盲囊衣原体样生物的病理学研究[J]. 海洋科学, 1998, (3): 23- 25.]
- [4] Yang X Y, Li T B, Wang Y L, *et al.* Preliminary study on the cause of scallop death [J]. Shandong Fisheries, 1998, 15(6): 17- 19. [杨晓岩, 李天宝, 王远隆, 等. 山东沿海栉孔扇贝大量死亡原因初探. 齐鲁渔业, 1998, 15(6): 17- 19.]
- [5] Wang Y T, Xiang J H. Studies on causation of the mass mortality of *Chlamyfareri* [J]. Oceanol et Limnol Sin, 1999, 30(6): 770- 774. [王运涛, 相建海. 栉孔扇贝大规模死亡的原因探讨[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(6): 770- 774.]
- [6] Arzul I, Nicolas J L, Davison A J, *et al.* French scallop: a new host for ostreid herpesvirus 1 [J]. Virology, 2001, 290: 342- 349.
- [7] Liu Y J, Wang C M, Zhu M Z, *et al.* Rickettsia-like organisms in scallop *Chlamy fareri* and an artificial transmission experiment [J]. J Fish Sci China, 2002, 9(4): 346

- 352. [刘英杰, 王崇明, 朱;容壮, 等. 栉孔扇贝类立克次体自然感染调查及人工感染实验[J]. 中国水产科学, 2002, 9(4): 346- 352.]
- [8] He G Z, Li Y, Song W B, *et al.* The relationship between pathogenic infection status and the mortality of the scallop, *Chlamys farreri* [J]. J Fish China, 2003, 27(3): 271- 277. [贺桂珍, 李 赟, 宋微波, 等. 栉孔扇贝病原体感染与疾病发生关系探讨[J]. 水产学报, 2003, 27(3): 271- 277.]
- [9] Ai H X, Wang C M, Wang X H, *et al.* Artificial infection of culture scallop *Chlamys farreri* by pathogen from acute virus necrobiotic disease[J]. J Fish Sci China, 2003, 10(5): 386- 390. [艾海新, 王崇明, 王秀华, 等. 栉孔扇贝急性病毒性坏死病原体人工感染研究. 中国水产科学, 2003, 10(5): 386- 390.]
- [10] Wang X H, Wang C M, Li Y, *et al.* Epidemiological study on massive death of the cultured scallop *Chlamys farreri* in the Jiaozhou Bay[J]. J Fish China, 2002, 26(2): 149- 155. [王秀华, 王崇明, 李 筠, 等. 胶州湾栉孔扇贝大规模死亡的流行病学调查[J]. 水产学报, 2002, 26(2): 149- 155.]
- [11] Wang C M, Wang X H, Song X L, *et al.* Purification and ultrastructure of a spherical virus in cultured scallop *Chlamys farreri*[J]. J Fish China, 2002, 26(2): 180- 184. [王崇明, 王秀华, 宋晓玲, 等. 栉孔扇贝一种球形病毒的分离纯化及其超微结构观察[J]. 水产学报, 2002, 26(2): 180- 184.]
- [12] He G Z, Li Y, Wang C M, *et al.* Studies on relationship between pathogenic infection status and the mortality of the scallop, *Chlamys farreri* and *Argopecten irradians* [J]. High Technology Letters, 2003, 13(3): 75- 79. [贺桂珍, 李 赟, 王崇明, 等. 栉孔扇贝和海湾扇贝病原体感染与疾病发生关系探讨[J]. 高技术通讯, 2003, 13(3): 75- 79.]
- [13] Song W B, Wang C M, Wang X H, *et al.* New research progress on massive mortality of cultured scallop *Chlamys farreri* [J]. Marine Science, 2001, 25(12): 23- 26. [宋微波, 王崇明, 王秀华, 等. 栉孔扇贝大规模死亡的病原研究新进展[J]. 海洋科学, 2001, 25(12): 23- 26.]
- [14] Yin Z, Liu J H. Animal virology[M]. Beijing: Science Publishing House, 1997. 209- 238. [殷 震, 刘景华. 动物病毒学[M]. 北京: 科学出版社, 1997. 209- 238.]

图版说明 Explanation of Plate

1. 细胞核染色质边缘化, 核膜周隙扩张(➡); 2. 线粒体肿大, 基质透明, 嵴断裂, 粗面内织网核蛋白体颗粒脱落; 3. 线粒体嵴消失, 细胞质中出现髓鞘样小体; 4. 细胞浆内充满大小不等的膜界性空泡; 5. 细胞器消失, 形成均质无结构的空白区域, 仅剩裸露膨大的细胞核, 整个细胞出现解体现象; 6. 示肝胰腺小管间质细胞囊泡样结构(➡)中的病毒粒子; 7. 示外套膜结缔组织囊泡样结构(➡)中的病毒粒子; 8. 示病毒形态, 囊膜(➡), 核衣壳(⇐); 9. 示纯化后病毒粒子, 囊膜纤突(➡); 10. 示人工感染发病扇贝被感染组织中的病毒粒子

1. Chromatin margined and perinuclear space dilated (➡) in hypertrophied nuclei; 2. Mitochondria swell, matrix transparency, mitochondrial cristae rupture and ribosome detach from rough endoplasmic reticulum; 3. Mitochondrial cristae lysed and myelinbody appeared in the cytoplasm; 4. A number of membranous vacuolar appeared in the cytoplasm; 5. Organs in the cytoplasm disappeared resulted in empty space and naked hypertrophied nuclei amongst the lesions, lastly cellular disintegration; 6. The virions in the cytoplasm vesicle-like structure(➡) of mesenchymal cell in digestive glands; 7. The virions in the cytoplasm vesicle-like structure (➡) of connective tissue in mantle; 8. The morphology of virions: envelope(➡)and nucleocapsid(⇐); 9. Purified virus by negative staining, showing the integrity virus and the spike(➡)on the surface of envelope; 10. The virions in infective cell of diseased scallop in infective experiment

HC: 异染色质; N: 细胞核; M: 线粒体; RER: 粗面内织网; MV: 膜界性空泡; MB: 髓鞘样小体; NM: 核膜; V: 病毒粒子

HC: heterochromatin; N: nucleus; M: mitochondria; RER: rough endoplasmic reticulum; MV: membranous vacuolar; MB: myelinbody; NM: nuclear membrane; V: virions

