



鳎疱疹病毒的生物学及理化特性

杨金先, 陈强, 李英英, 宋铁英, 葛均青*

(福建省农业科学院生物技术研究所, 福建福州 350003)

摘要: 为了明确鳎疱疹病毒 (Anguillid herpesvirus, AngHV) 的生物学及理化特性, 本实验利用一株从欧洲鳎“脱黏败血综合征”病料中分离的 AngHV 病毒株, 研究了其增殖特性及其对主要鱼类细胞系的感染敏感性, 进一步分析了其对热、酸碱、氯仿和乙醚等理化因子的耐受性。结果发现, AngHV 感染的鳎卵巢细胞系 (eel ovary cell line, EO) 内可见典型的疱疹病毒样颗粒, 细胞出现时序性细胞病变; AngHV 可在 EO 细胞系内稳定传代, 较适宜扩繁温度为 25~27 °C, 不能在鲤上皮瘤细胞系 (epithelioma papilloma cypripinid cell line, EPC)、草鱼卵巢细胞系 (grass carp ovary cell line, CO)、胖头鲮肌肉细胞系 (fathead minnow cell line, FHM)、大鳞大麻哈鱼胚胎细胞系 (chinook salmon embryo cell line, CHSE-214)、虹鳟性腺细胞系 (rainbow trout gonad cell line, RTG-2) 及蓝鳃太阳鱼细胞系 (bluegill fry cell line, BF-2) 等鱼类细胞内增殖; 理化特性分析表明, 37 °C 处理 30 min, AngHV 滴度降低不明显, 而 56 °C 处理 30 min 可完全灭活 AngHV; AngHV 对酸 (pH 3.0) 敏感, 而对碱 (pH 10.0) 较耐受, 同时对氯仿和乙醚敏感。本研究结果可为 AngHV 的综合防控及疫苗的开发提供参考依据。

关键词: 鳎疱疹病毒; 脱黏败血综合征; 生物学特性; 理化特性

中图分类号: S 941.41

文献标志码: A

鳎 (*Anguilla* spp.) 是我国重要的水产养殖品种, 养殖产量约占世界产量的 70%, 其中, 福建省和广东省是鳎养殖主产区, 规模化养殖的品种有欧洲鳎 (*A. anguilla*)、美洲鳎 (*A. rostrata*) 和日本鳎 (*A. japonica*)。鳎“脱黏败血综合征”是欧洲鳎和美洲鳎养殖过程中黑仔和幼鳎生长阶段最重要的传染性疾病, 具有发病率高、病程短、传播速率快和累计死亡率高等特点, 给养殖业者造成了巨大的经济损失。自我国开展鳎规模化养殖以来该病就有发生, 且在养殖周期内只发病一次, 痊愈鳎不再发病; 早期研究认为, 其可能是由霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae*)^[1]、嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*)^[2] 及豚

鼠气单胞菌 (*A. caviae*)^[3] 等细菌引起, 但临床实践中针对细菌性病原用药无法有效预防和控制病程的发生。疾病流行病学与诊疗实践表明, 鳎“脱黏败血综合征”是由病毒引起的。实验首次利用建立的 PCR 检测方法从“脱黏败血综合征”病料中检测出鳎疱疹病毒 (Anguillid herpesvirus, AngHV)^[4], 并成功分离培养出 AngHV^[5]。这为深入开展养殖鳎“脱黏败血综合征”的防控研究奠定了重要基础。

AngHV 是一种普遍存在的病毒性病原, 最早由 Sano 等^[6] 于 1990 年从养殖的日本鳎中分离。目前, 已从世界多地养殖的鳎中分离鉴定出 AngHV^[5-10]。用过的名称包括鳎疱疹病毒

收稿日期: 2019-11-10 修回日期: 2020-03-04

资助项目: 国家自然科学基金 (31101933); 福建省公益类科研院所基本科研专项 (2017R1019-5); 福建省农业科学院项目 (AC2017-1)

通信作者: 葛均青, E-mail: jqge@163.com

(Herpesvirus anguillae)^[8]、台湾鳗鲡疱疹病毒 (Eel herpesvirus in Formosa)^[11]、鳗鲡鳃疱疹病毒 (Gill herpesvirus of eel)^[12]和鳗鲡疱疹病毒 1 型 (Anguillid herpesvirus 1)^[13]等。此外, AngHV 还可能是造成野生鳗鲡减少的重要因素^[13-14]。AngHV 是一种具有囊膜的双链 DNA 病毒, 基因组大小约 249 kb, 编码 136 个开放阅读框 (open reading frame, ORF)^[13], 序列分析表明, 从亚洲和欧洲等国家和地区分离的 AngHV 病毒株为同一种病毒^[14]。了解病毒的生物学和理化特性是开展病毒防控研究的重要前提。本实验利用一株从欧洲鳗鲡“脱黏败血综合征”病料中分离的 AngHV, 研究了其对不同来源的鱼类细胞系的侵染情况, 分析了其在敏感细胞系中的增殖及理化特性, 研究结果为开展 AngHV 病的发病机制研究、开发综合防控技术及灭活疫苗等提供了依据。

1 材料与方法

1.1 细胞培养

鳗鲡卵巢细胞系 (eel ovary cell line, EO)、鲤上皮瘤细胞系 (epithelioma papilloma cyprinid cell line, EPC)、草鱼卵巢细胞系 (grass carp ovary cell line, CO)、胖头鲂肌肉细胞系 (fathead minnow cell line, FHM)、大鳞大麻哈鱼胚胎细胞系 (chinook salmon embryo cell line, CHSE-214)、虹鳟性腺细胞系 (rainbow trout gonad cell line, RTG-2)、蓝鳃太阳鱼细胞系 (bluegill fry cell line, BF-2) 由福建省农业科学院生物技术研究所保存, 按照细胞系的各自培养条件进行常规培养。

1.2 病毒株的细胞分离

2016 年 10 月, 福建省南安市某鳗鲡养殖场养殖的欧洲鳗鲡发生“脱黏败血综合征”, 取濒死欧洲鳗鲡的肝脏和肾脏组织, 匀浆后过滤除菌, 接种 EO 细胞系, 观察和记录细胞病变情况。收集上清液, 继续接种 EO 细胞系传代, 稳定扩繁 3 代后, EO 细胞系出现稳定的细胞病变效应 (cytopathic effect, CPE), 命名为 NA16108, 分装后 -80 °C 保存备用。继续用 EO 细胞系进行连续传代, 传至第 8 代, 每代次收集细胞 -80 °C 保存备用。

1.3 病毒的 PCR 鉴定

取病毒感染细胞, 利用血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒 [天根生化科技 (北京) 有限公司] 提取 DNA。利用引物对 EHV-FW: ACTCT

GGCTCGCAACCAATCT 和 EHV-RW: CCACCAAACAACCCAGCACAATC 进行 AngHV 的 PCR 检测, 该引物对可特异性扩增 AngHV ORF95 序列 (245 bp)。PCR 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳后回收阳性条带, 克隆后进行测序。

1.4 病毒形态的电镜观察

取保存的病毒 NA16108 上清液接种培养至单层的 EO 细胞系, 待 50% 细胞产生 CPE 时收集细胞, 进行固定、梯度脱水、包埋、超薄切片, 染色后在透射电镜 (HT7700, 日立) 下观察病毒粒子的形态及分布情况并拍照。

1.5 病毒培养与滴度测定

将培养至单层的 EO 细胞系胰酶消化后计数, 接种至 96 孔细胞培养板, 每孔 0.1 mL。取待测病毒的上清液, 进行系列 10 倍倍比稀释, 分别接种 96 孔板中的 EO 细胞系, 每个稀释度重复 6 孔。27 °C 培养, 6 d 后观察并记录细胞 CPE 出现的孔数, 依照 Reed-Muench 法计算病毒滴度 TCID₅₀。

1.6 病毒在不同温度条件下的增殖

取保存的病毒 NA16108 上清液按照感染复数 (multiplicity of infection, MOI) 为 1.0 的比例接种单层的 EO 细胞系, 分别置于 15、25、27 和 30 °C 细胞培养箱中培养, 设 3 个重复。分别在感染后的第 2 (2 dpi)、3、4、5 和 6 天收集上清液测定其病毒滴度 TCID₅₀。

1.7 病毒的细胞敏感性

取保存的病毒 NA16108 上清液, 按照 MOI 为 1.0 的比例接种单层的 EO、EPC、CO、FHM、CHSE-214、RTG-2 和 BF-2 细胞系, 分别置于相应的培养条件下培养, 逐日 (1~6 d) 用倒置显微镜观察和拍照, 记录细胞的 CPE 出现情况。如上述细胞接种病毒 6 d 后, 细胞仍未出现 CPE, 为确定 AngHV 能否在细胞内增殖, 则取细胞上清液 1.0 mL 继续接种 T25 细胞瓶中铺满单层的相同种类细胞, 连续传代 3 代后, 取细胞上清液用 EO 细胞系测定其病毒滴度 TCID₅₀, 收集培养细胞, 参考“病毒的 PCR 鉴定”部分的方法进行 AngHV 的 PCR 检测。

1.8 病毒的热敏感性

将保存的病毒 NA16108 上清液分别置于 37 °C 和 56 °C 水浴中恒温处理 30 min, 分别测定其病毒滴度 TCID₅₀, 设 3 次重复。

1.9 病毒的酸碱稳定性

将保存的病毒 NA16108 上清液分别用 HCl (1 mol/L) 和 NaOH(1 mol/L) 调节其 pH 值为 3.0 和 10.0, 27 °C 处理 1 h 后, 再分别用 NaOH 或 HCl 调节其 pH 至 7.0 后, 用 EO 细胞系测定其病毒滴度 TCID₅₀, 设 3 次重复。

1.10 病毒的有机溶剂敏感性

病毒 NA16108 上清液分别添加氯仿和乙醚溶液, 使终浓度分别为 4.8% 和 20%, 充分混匀, 室温孵育 20 min, 1 000 r/min 离心 5 min, 收集上清液, 测定其病毒滴度 TCID₅₀, 设 3 次重复。

2 结果

2.1 AngHV 的细胞分离

EO 细胞系接种患“脱黏败血综合征”的欧洲鳊组织 (肝脏、肾脏) 匀浆液, 分离出一株病毒, 经空斑纯化、PCR 和电镜观察鉴定, 确定分离的病毒为鳃鲷疱疹病毒, 命名为 NA16108 (图 1)。该病毒株扩繁 3 代后, 细胞发生稳定的时序性 CPE, 对照细胞一直维持正常的长纤维状贴壁 (图版-1), 而感染组主要表现为从第 3 天开始许多细胞变圆、半悬浮、融合 (图版-2), 在第 5 天多数细胞产生 CPE(图版-3)。取每代经病毒感染的细胞, 进行 AngHV 的 PCR 鉴定, 结果从第 1 代至第 8 代均扩增出 AngHV 的特异性条带 (图 2), 这表明 AngHV 可以在 EO 细胞系中稳定传代。

2.2 AngHV 对不同来源细胞系的感染敏感性

NA16108 按照 MOI 为 1.0 的比例接种 7 种不同来源的鱼类细胞系, EO 细胞系在第 3 天就出现

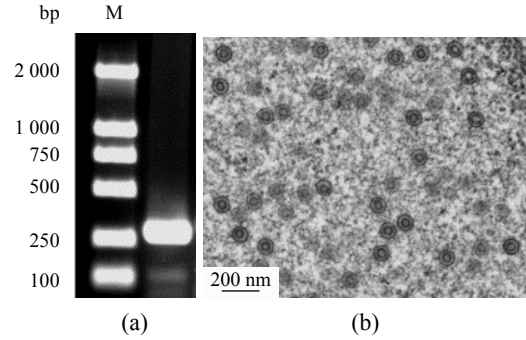


图 1 分离 AngHV 的 PCR 鉴定 (a) 及电镜观察 (b)
Fig. 1 PCR identification (a) and electron microscopy observation (b) of the isolated AngHV

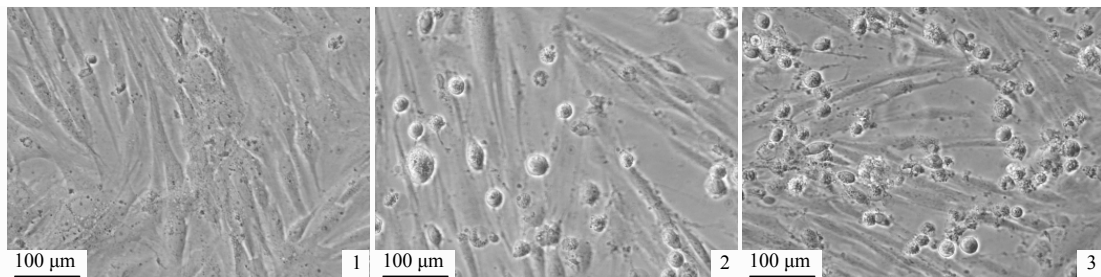
典型 CPE, 而 EPC、CO、FHM、CHSE-214、RTG-2 和 BF-2 细胞系连续传 3 代均未观察到 CPE; 进一步对第 3 代细胞培养上清液的病毒滴度进行了测定, 结果 EO 细胞系培养上清液的 AngHV 滴度可达到 10^{7.51±0.14}/mL, 未在 EPC、CO、FHM、CHSE-214、RTG-2 和 BF-2 细胞系培养上清液中检测到病毒 (表 1), 也未在 EPC、CO、FHM、CHSE-214、RTG-2、BF-2 细胞系内检测到 AngHV(图 3)。

2.3 AngHV 的适宜增殖温度

利用 EO 细胞系测定了 NA16108 在不同温度条件下的增殖情况。结果显示, 在 25 和 27 °C 下病毒增殖较快, 并在第 4 天达到峰值 10^{7.31±0.14}/mL (图 4); 在 30 °C 下, 第 2 天就达到 10^{6.25±0.10}/mL, 但之后病毒滴度并无增高; 在 15 °C 下, 病毒增殖缓慢, 第 6 天仅达到 10^{5.63±0.12}/mL。结果表明, AngHV 在 15~30 °C 均能在 EO 细胞系内繁殖, 但较适宜的增殖温度为 25~27 °C。

2.4 AngHV 的理化特性

为了解 AngHV 的理化特性, 对 NA16108 分



图版 AngHV 引起 EO 细胞系发生时序性细胞病变

1. 感染后第 1 天; 2. 感染后第 3 天; 3. 感染后第 5 天

Plate Sequential cytopathic effects of the EO cell line infected with AngHV

1. 1 dpi; 2. 3 dpi; 3. 5 dpi

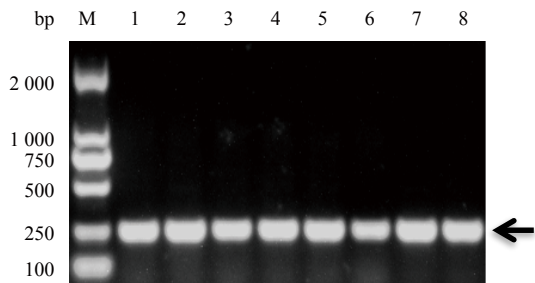


图2 PCR检测 AngHV 在 EO 细胞系内的传代培养

1. 第1代; 2. 第2代; 3. 第3代; 4. 第4代; 5. 第5代; 6. 第6代; 7. 第7代; 8. 第8代

Fig. 2 PCR identification of the AngHV subculture in EO cell line

1. 1st generation; 2. 2nd generation; 3. 3rd generation; 4. 4th generation; 5. 5th generation; 6. 6th generation; 7. 7th generation; 8. 8th generation

别进行热处理、酸碱处理、有机溶剂处理后, 测定病毒的滴度。结果显示, 37 °C 处理 30 min, 病毒的滴度无明显下降, 仍可达到 10^{7.27±0.34}/mL,

表1 AngHV 对不同鱼类细胞系的感染敏感性

Tab. 1 Infection susceptibility of AngHV to different fish cell lines

敏感性检测 infection susceptibility	细胞系 cell lines						
	EO	EPC	CO	FHM	CHSE-214	RTG-2	BF-2
出现CPE的时间/d time of CPE appearance	3	-	-	-	-	-	-
病毒滴度/mL virus titer	10 ^{7.51±0.14}	-	-	-	-	-	-

注: - 表示未出现细胞病变效应
Notes: - means no CPE

鱼类疱疹病毒具有高度的宿主种别专一性, 一种病毒仅侵染一种鱼类或非常近缘的种类, 这可以从病毒的细胞培养特性上反映出来^[16]。CyHV-3 不能在 EPC、CO 和 CIK 等常用的鱼类细胞系内复制, 而可用锦鲤鳍条细胞系 (KCF-1) 分离^[15]; CyHV-2 不能在 EPC、RTG-2、锦鲤鳍条细胞系 (koi-fin)、草鱼肾脏细胞系 (*Ctenopha-*

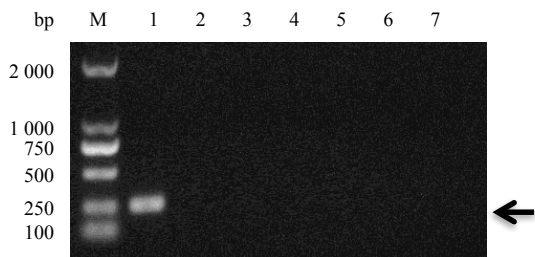


图3 PCR检测 AngHV 在不同鱼类细胞系内的复制

Fig. 3 PCR identification of AngHV replication in different cell lines

1. EO; 2. EPC; 3. CO; 4. FHM; 5. CHSE-214; 6. RTG-2; 7. BF-2

而 56 °C 处理 30 min 可完全灭活病毒; pH 3.0 处理 1 h 可使病毒完全灭活, 而 pH 10.0 处理 1 h 对病毒滴度影响不大, 仍可达到 10^{6.53±0.19}/mL; 氯仿、乙醚溶液处理可使 AngHV 完全灭活 (表2)。

3 讨论

疱疹病毒感染宿主广泛, 包括可感染哺乳类、鸟类等脊椎动物的疱疹病毒科 (Herpesviridae), 感染鱼类及两栖类的疱疹病毒科 (Alloherpesviridae), 以及感染非脊椎动物的软体动物疱疹病毒科 (Malacoherpesviridae)。疱疹病毒是水生养殖动物的重要病毒性病原, 如鲤疱疹病毒 (cyprinid herpesvirus, CyHV)、斑点叉尾鲷病毒 (channel catfish virus, CCV), 鲑疱疹病毒 (salmonid herpesvirus, SalHV), 蛙疱疹病毒 (ranid herpesvirus, RHV), 鲍鱼疱疹病毒 (abalone herpesvirus, AbHV) 等均与严重的疾病暴发有关^[15]。

ryngodon idella kidney cell line, CIK) 及斑点叉尾鲷肾脏细胞系 (channel catfish kidney cell line, CCK) 等常用鱼类细胞系内稳定传代^[16]。目前, 已用鳗鲡源细胞系从日本鳗鲡、欧洲鳗鲡中分离出多株 AngHV。本实验证实, AngHV 能在鳗鲡源的

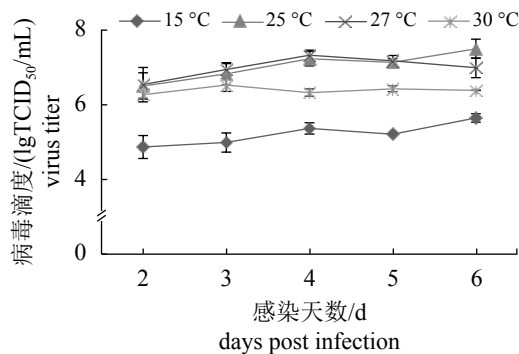


图4 温度对 AngHV 在 EO 细胞系内增殖的影响

Fig. 4 Influence of temperature on the replication of AngHV in EO cell line

表 2 部分理化因子对 AngHV 滴度的影响

Tab. 2 Effects of some physical and chemical factors on the titer of AngHV

处理 treatment	37 °C	56 °C	pH 3.0	pH 10.0	氯仿溶液 chloroform	乙醚溶液 ether	对照 control
TCID ₅₀	10 ^{7.27±0.34}	0	0	10 ^{6.53±0.19}	0	0	10 ^{7.50±0.35}

EO 细胞系内增殖和稳定传代, 而不能在 EPC、CO、FHM、CHSE-214、RTG-2 和 BF-2 细胞系内增殖和引起细胞病变。这表明, AngHV 也具有高度的宿主细胞感染专一性, 非鳎来源的细胞系不支持 AngHV 的复制与增殖。

鱼类疱疹病毒的致病性与水温密切相关。AngHV 的增殖研究表明, AngHV 在 15~30 °C 范围内都可在 EO 细胞系内增殖, 但较适宜的扩增温度为 25~27 °C, 这与鳎“脱黏败血综合征”在 24~30 °C 的高水温季节高发、多发是一致的。AngHV 的理化特性分析表明, 37 °C 处理 30 min 病毒滴度未显著降低, 56 °C 处理 30 min 可完全灭活病毒; 氯仿或乙醚溶液处理, 可完全灭活病毒, 这与 AngHV 具囊膜相一致; AngHV 对酸 (pH 3.0) 敏感, 而对碱 (pH 10.0) 较耐受。当前, AngHV 的病原学、致病机制和防控技术等研究还处于初始阶段, 在获得有效的疫苗之前, 可根据 AngHV 的理化与生物学特性, 开发鳎“脱黏败血综合征”的综合防控技术。如根据 AngHV 对酸敏感的特性, 在临床中应用季铵盐类、水杨酸类等水体消毒剂浸泡发病鳎、处理水体环境, 可较好地防控鳎“脱黏败血综合征”, 降低死亡率。

参考文献 (References):

- [1] 樊海平, 黄晓飒, 徐娟儿. 养殖欧洲鳎脱粘病的研究[J]. 中国水产科学, 1998, 5(2): 68-72.
Fan H P, Huang X F, Xu J E. Research on the mucous sloughing disease of cultured eel, *Anguilla anguilla*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 1998, 5(2): 68-72(in Chinese).
- [2] 林天龙, 陈日升, 董传甫, 等. 欧鳎嗜水气单胞菌的分离、鉴定和特性分析[J]. 福建农业学报, 2001, 16(4): 35-40.
Lin T L, Chen R S, Dong C F, et al. Isolation and identification of the *Aeromonas hydrophila* pathogenic strains from *Anguilla anguilla*[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2001, 16(4): 35-40(in Chinese).
- [3] 樊海平, 曾占壮, 余培建, 等. 由豚鼠气单胞菌引起的欧洲鳎败血症[J]. 水产学报, 1999, 23(3): 313-318.
Fan H P, Zeng Z Z, Yu P J, et al. The septicaemia of *Anguilla anguilla* infected by *Aeromonas caviae*[J]. Journal of Fisheries of China, 1999, 23(3): 313-318(in Chinese).
- [4] 葛均青, 杨金先, 李友娟, 等. 鳎病毒性疾病病料中鳎疱疹病毒的 PCR 检测[J]. 福建农业学报, 2012, 27(9): 961-964.
Ge J Q, Yang J X, Li Y J, et al. Polymerase chain reaction for the detection of herpesvirus *Anguillae* in eel viral disease samples[J]. *Fujian Journal of Agricultural sciences*, 2012, 27(9): 961-964(in Chinese).
- [5] 葛均青, 杨金先, 龚晖, 等. 鳎疱疹病毒的分离与鉴定[J]. 水产学报, 2014, 38(9): 1579-1583.
Ge J Q, Yang J X, Gong H, et al. Isolation and identification of a herpesvirus from cultured European eels *Anguilla anguilla* in China[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(9): 1579-1583(in Chinese).
- [6] Sano M, Fukuda H, Sano T. Isolation and characterization of a new herpesvirus from eel[M]//Perkins F O, Cheng T C. Pathology in Marine Science. San Diego: Academic Press, 1990: 15-31.
- [7] Chang P H, Pan Y H, Wu C M, et al. Isolation and molecular characterization of herpesvirus from cultured European eels *Anguilla anguilla* in Taiwan[J]. *Diseases of Aquatic Organism*, 2002, 50(2): 111-118.
- [8] van Nieuwstadt A P, Dijkstra S G, Haenen O L M. Persistence of herpesvirus of eel *Herpesvirus anguillae* in farmed european eel *Anguilla anguilla*[J]. *Diseases of Aquatic Organism*, 2001, 45(2): 103-107.
- [9] Jakob E, Neuhaus H, Steinhagen D, et al. Monitoring of *Herpesvirus anguillae* (HVA) infections in European eel, *Anguilla anguilla* (L.), in northern Germany[J]. *Journal of Fish Diseases*, 2009, 32(6): 557-561.
- [10] Kim H J, Yu J H, Kim D W, et al. Molecular evidence of anguillid herpesvirus-1(AngHV-1) in the farmed Japanese eel, *Anguilla japonica* Temminck & Schlegel, in Korea[J]. *Journal of Fish Diseases*, 2012, 35(4): 315-319.
- [11] Shih H H, Lu C C, Chen S N. Eel herpesvirus in Forosa[R]. COA Fisheries Series No.40, Fish Disease

- Research (XIII), 1993: 86-96.
- [12] Lee N S, Kobayashi J, Miyazaki T. Gill filament necrosis in farmed Japanese eels, *Anguilla japonica* (Temminck & Schlegel), infected with Herpesvirus anguillae[J]. *Journal of Fish Diseases*, 1999, 22(6): 457-463.
- [13] van Beurden S J, Bossers A, Voorbergen-Laarman M H A, *et al.* Complete genome sequence and taxonomic position of Anguillid herpesvirus 1[J]. *Journal of General Virology*, 2010, 91(4): 880-887.
- [14] Wen C M, Liu P C, Nan F H. Complete genome sequence of *Herpesvirus anguillae* strain HVA980811 isolated in Chiayi, Taiwan[J]. *Genome Announcement*, 2017, 5(8): 01677-16.
- [15] Hanson L, Dishon A, Kotler M. Herpesviruses that infect fish[J]. *Viruses*, 2011, 3(11): 2160-2191.
- [16] 马杰, 周勇, 范玉顶, 等. 鲤疱疹病毒II型的理化及生物学特性和超微形态发生[J]. *水产学报*, 2016, 40(3): 475-483.
- Ma J, Zhou Y, Fan Y D, *et al.* The physical-chemical and biological characteristics of Cyprinid herpesvirus 2 and its ultrastructural morphogenesis *in vitro*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(3): 475-483(in Chinese).
- [17] Dong C F, Weng S P, Li W, *et al.* Characterization of a new cell line from caudal fin of koi, *Cyprinus carpio koi*, and first isolation of cyprinid herpesvirus 3 in China[J]. *Virus Research*, 2011, 161(2): 140-149.

Biological and physicochemical characteristics of Anguillid herpesvirus

YANG Jinxian, CHEN Qiang, LI Yingying, SONG Tiewing, GE Junqing*

(Institute of Biotechnology, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350003, China)

Abstract: To clarify the biological and physicochemical properties of Anguillid herpesvirus (AngHV), an AngHV strain, NA16108, isolated from the diseased *Anguilla anguilla* of "mucus sloughing and hemorrhagic septicemia disease" was used to study its replication characteristics and infection sensitivity to some fish continuous cell lines, and its survivability to heat, acid, alkali, chloroform, ether and other physical and chemical factors was further analyzed. The results indicated that AngHV infected eel ovary cells (EO) showed typical sequential cytopathic effects (CPE), and many typical herpesvirus-like viral particles could be seen in the infected cells. AngHV could propagate stably in EO cells, and the suitable temperature for propagation is 25 °C to 27 °C, but it could not propagate in epithelioma papilloma cyprinid cells (EPC), grass carp ovary cells (CO), fathead minnow cells (FHM), chinook salmon embryo cells (CHSE-214), rainbow trout gonad cells (RTG-2), bluegill fry cells (BF-2). The titer of AngHV slightly decreased after 30 min treatment at 37 °C, and it could be completely inactivated after 30 min treatment at 56 °C. AngHV is sensitive to acid (pH 3.0), but resistant to alkali (pH 10.0), and highly sensitive to chloroform, ether and other organic solvents. These results can provide references for the prevention and control of AngHV diseases.

Key words: Anguillid herpesvirus; mucus sloughing and hemorrhagic septicemia disease; biological characteristics; physicochemical characteristics

Corresponding author: GE Junqing. E-mail: jqge@163.com

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31101933); Public-Interest Scientific Institution Basal Research Fund of Fujian Province (2017R1019-5); Fujian Academy of Agricultural Sciences (AC2017-1)