

360-863

3293(12)

普资讯 http://www.cip.com

皱纹盘鲍一种球形病毒的感染及其发生*

王斌 李霞

(大连水产学院养殖系, 大连 116023)

高船舟

(大连医科大学电镜室, 大连 116023)

S94/41

A

摘要 在发病的皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai* Ino)幼鲍的足、内脏团、外套膜的血细胞质内,发现一种直径为90~140 nm的球形病毒粒子,带双层囊膜,无包涵体。负染病毒粒子与超薄切片大小形态相同。用被病毒感染的患病幼鲍感染健康鲍获同样症状,死亡率为50%。并于人工感染死亡鲍鱼体内观察到同样病毒。

关键词 皱纹盘鲍, 球形病毒, 电镜观察 **感染;**
鲍鱼

皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai* Ino)为大连地区养殖的珍贵海产品,具有极高营养价值及高品位的口感。每年为国家创大量外汇。近年来大连地区养殖鲍鱼从苗期开始出现大面积发病,表现为不进食,活动迟缓,生长极缓慢,部分死亡。投用抗菌素无效。为搞清病因,采取对策,避免更大经济损失,我们通过对自然发病的幼鲍各主要器官进行电镜超薄切片观察、组织匀浆上清液负染观察及人工感染实验,证实该病是由一种球形病毒引起。关于贝类病毒病的研究,Farly(1972)^[1]、Elston(1979)^[2]、Meyers(1979)^[3]等曾报道过引起太平洋牡蛎和美国牡蛎病害的一种似疱疹病毒和呼肠孤病毒。引起鲍鱼病害的病毒目前国内外未见报道。国内曾有鲍鱼“气孢病”^[4]和“脓孢病”^[5]的报道,但均由细菌引起。现将该病毒的研究结果报告如下:

材料和方法

1 病鲍来源

自然发病鲍鱼采自大连海珍品养殖场,人工感染试验鲍鱼采自大连碧龙海珍品养殖公司。

2 人工感染试验

挑选健康并抽样经负染电镜观察不带病毒的幼鲍为感染对象,大小约1.5 cm,分两组进行:(1)对照组:投喂配合饲料;(2)感染组:将病鲍去壳研磨成浆喷撒于饲料上,每克饲料喷约0.2 g,每次投喂2~3 g饲料,每天1次。

3 电镜样品

超薄切片样品:取发病濒死幼鲍,大小约0.5~1 cm。分别将外套膜、足、内脏团用2.5%戊二醛和1%锇酸双固定,系列乙醇脱水,Epon 812包埋,LKB-5型超薄切片机切片,经醋酸铀和柠檬酸铅双染色后,JEM-

收稿日期:1996-11-25,修回日期:1997-01-06

* 大连市青年基金资助课题

1200EX 透射电镜观察并拍照。

负染样品:取病鲍整体约 5 g,加等量 pH 7.6 PBS 匀浆破碎细胞,8000 r/min,离心 5 min 后取上清液, pH 7.2 磷酸铀负染后,同样用电镜观察并拍照。

经感染试验发病濒死幼鲍同样用上述两种方法分别制样观察。

结果和讨论

1 自然发病状况

每逢秋季幼鲍开始出现摄食差,活动力减弱,壳外翻,壳孔相互融合,逐渐死亡。

2 感染试验结果

人工感染试验中,试验组出现自然发病同样症状。于第 9 天开始出现死亡,但死亡数不集中,于第 20 天后不再死亡,死亡率 50%。其余鲍鱼生长甚微,消瘦。详见表 1。

表 1 人工感染实验结果

Tab 1 The result of infected experiment

分 组 Group	死亡数 Number of death							死亡率(%) Rate of death
	9d	11d	17d	19d	20d	21d	22~24d	
试验组 18 枚 Infection group(18)	2	4	1	1	1	0	0	50
对照组 18 枚 Control group (18)	0	0	0	0	0	0	0	0

从感染试验结果看:试验组鲍鱼出现与自然发病完全相同的症状,证实带病毒组织可经消化道感染健康鲍鱼。综合自然发病和人工感染试验的情况发现,该病毒不造成宿主的大量死亡,从感染试验结果看,死亡高峰在第 11 天左右。主要表现为病程长,染病鲍鱼生长极缓慢,并出现壳的病理变化,尤其苗期出现“老头苗”。这与陈棣华^[6]等所报道的一种球形病毒引起中国对虾病害的症状相似,但病毒形态差异较大。战文斌等^[7]报道杆状病毒引起中国对虾暴发性疾病起病急,死亡率极高。与球形病毒造成的感染有明显不同,这可能提示球形病毒引起的水产动物病害不象杆状病毒那样凶险。只要及时采取对策,改善生长环境条件,加强体质,可避免造成重大经济损失。

3 电镜观察结果

从自然发病和人工感染发病鲍鱼的部分器官超薄切片样品中均观察到同样形态的病毒粒子。电镜下见病毒粒子广泛存在于病鲍的内脏团(包括肝、肠等),外套膜,足的血细胞质中。病毒粒子呈球形, Φ : 90~140 nm,核衣壳 Φ : 60~120 nm。双层囊膜厚约 8~10 nm,与核衣壳间距为 15~20 nm,囊膜较光滑(图 1~4)。无包涵体。负染电镜观察病毒粒子与超薄切片大小基本相同。负染病毒粒子可观察到双层囊膜下有一内膜包绕着核衣壳(图 6)。从病毒形态看,与殷震^[8]描述的反录病毒的囊膜及囊膜内层内膜结构非常相似。但无其中所描述的囊膜突起。超薄切片中病毒粒子形态也与反录病毒科中肿瘤亚科的牛白血病病毒和鼠白血病病毒形态相似,尤其类似后者。而且该病毒也侵犯血细胞,存在于细胞质,无包涵体。我们认为不能排除该鲍病毒属于反录病毒科的可能性。但由于鲍鱼与脊椎动物种系相差甚远,要确定为同种病毒尚需进行大量研究。



图1 肝脏血细胞质膜状结构中已装配好和正在装配的病毒粒子 Δ 双层膜膜

Fig 1 The virion assembled and assembling in membranous structure. Δ dual unit membrane

图2 感染试验死亡鮟鱼外套膜血细胞中的病毒粒子

Fig 2 The virion in blood cell of mantle of dead abalone by infection experiment

图3 足血细胞中大量病毒粒子

Fig 3 A lot of virion in blood cell of foot

图4 病毒从膜状结构破裂处释出

Fig 4 The virion released from the break of membranous structure

图5 类似封入体中的病毒粒子

Fig 5 The virion in membranous structure similar to occlusion-body

图6 负染病毒粒子, 脂质膜下可见核衣壳内膜结构

Fig 6 The virion in negative staining. The membrane of nucleocapsid was observable in inside of envelope

这种病毒主要在细胞质中发生。病毒粒子外经常有一双层膜结构(图1, 4, 5), 该膜结构非常相似于张建红^[9]等描述的中国对虾杆状病毒的“封入体”。在膜状结构中可见到一电子致密区, 其电子密度与核衣壳相同, 并在旁边有正在装配的病毒粒子及空囊膜(图1), 我们认为该致密区为病毒核酸发生基质。膜中还见到裸露的核衣壳和未完全装配好的病毒粒子(图2, 5), 病毒粒子在这种膜结构中发生并组装, 然后可通过膜破裂处释放到膜外(图4)。因此这种形如“封入体”的膜结构很可能是该病毒在细胞内的发生基质。这与对虾杆状病毒在细胞内的发生有相似之处。

参 考 文 献

- 1 Farly C A. Oyster herpes - type virus. Science, 1972, 178:759 - 760
- 2 Elston R. Virus - like particles associated with lesions in larval pacific oysters (*Crassostrea gigas*). J Invert Path, 1979, 33: 71 - 74
- 3 Meyers T R. A reo - like virus isolated from juvenile American oysters (*Crassostrea virginica*). J Gen Virol, 1979, 43:203 - 212
- 4 杨爱国. 皱纹盘鲍的气泡病及其防治初探. 齐鲁渔业, 1987, (1):34
- 5 刘金屏. 皱纹盘鲍脓疱病的研究. 中国水产科学, 1995, 2(2):78 - 84
- 6 陈豫华. 中国对虾中一种球状病毒的分离提纯与检测. 中国病毒学, 1994, 9(2):170 - 173
- 7 战文斌. 中国对虾(*Penaeus chinensis*)杆状病毒病的研究. 中国水产科学, 1995, 2(3):22 - 28
- 8 殷震主编. 动物病毒学. 北京: 科学出版社, 1985, 575 - 602
- 9 张建红. 中国对虾非包涵体杆状病毒在体内的感染与发生. 中国病毒学, 1994, 9(4):362 - 366

Infection of Spherical Viruses from *Haliotis discus hannai* Ino

Wang Bin Li Xia

(Dalian Fisheries College, Dalian 116023)

Gou Chuanzhou

(Dalian Medical University, Dalian 116023)

The spherical virion with the size of 90~140 nm in diameter was detected in blood cell matrix of the feet, mantle and internal organization of diseased abalone. The virion was surrounded by dual unit membrane, no inclusion body. The morphology and size of virion in negative staining were the same as the observation in ultrathin sections. Identical symptom appeared in artificial infection experiment. The rate of death was 50%. Identical virion was observed in the dead abalone

Key words *Haliotis discus hannai* Ino, Spherical Viruses, Infection experiment, Electronmicroscopic observation