

S94
X36

海水养殖生物病害发生与控制

**Disease Occurrence and Control Strategies
of Mariculture Organisms**

相建海 主编

海洋出版社

2001年·北京

内 容 简 介

随着我国水产养殖业的日益发展,海水养殖生物病害问题逐渐成为影响我国水产养殖业持续健康发展的一个瓶颈和亟待解决的热点、难点问题。本书正是在这种背景下,在国家重点基础研究发展规划的资助下出版的,收集了国内该领域新近研究成果和国内外研究的最新进展。本书共分4章,第一章探讨了虾、贝、鱼类的病因学和研究途径。第二章论述了海水养殖生物的免疫系统和免疫反应过程。第三章主要描述了海水重要养殖生物的抗病力遗传学基础和一些新技术在种质改良和品种培育上的应用。第四章重点介绍了环境胁迫对生物抗病力的影响和相关的生态调控途径。本书可供高等院校、科研院所以及从事海洋生物病害研究工作的师生、学者参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

海水养殖生物病害发生与控制/相建海编著. —北京:海洋出版社, 2001.6
ISBN 7-5027-5287-0

I. 海… II. 相… III. 海水养殖-水生生物-病害-研究-中国 IV. S94

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2001) 第 032676 号

策划编辑: 陈燕燕

责任编辑: 赵叔松 陈 刚

责任印制: 严国晋

海洋出版社 出版发行

<http://www.oceanpress.com.cn>

(100081 北京市海淀区大慧寺路8号)

北京市燕山印刷厂印刷 新华书店发行所经销

2001年6月第1版 2001年6月北京第1次印刷

开本: 787×1092 1/16 印张: 13 彩页 1

字数: 330千字 印数: 0—1000册

定价: 60.00元

海洋版图书印、装错误可随时退换

《海水养殖生物病害发生与控制》

编委会成员

顾问 刘瑞玉 董昭和 赵法箴 张福绥
李永祺 张学成 杨丛海 李光友

主编 相建海

编委 (按姓氏笔画为序)

王凤起 王继业 杨 鸣 相建海
郭亚曦 董 波

序

我国的海水养殖业自新中国成立以来得到长足发展，取得了举世瞩目的成就：大型海藻、扇贝养殖产量居世界首位；对虾养殖在暴发病毒病前，也曾居世界首位；养殖产量占全世界海水养殖总产量的46%。我国海水养殖产量从1987年的192.6万t增至1999年的974万t，预计到21世纪初海水养殖产量将超过世界海水养殖总产量的50%。我国海水养殖业的发展，大大缓解了解决食物安全对陆地农业的压力，增加了劳动就业机会，扩大了出口创汇，促进了沿海地区经济的发展。

然而，随着海水养殖业的迅速发展，基础理论研究严重滞后、盲目扩大规模和投入的负面效应日益显露。由于绝大多数苗种繁育依赖野生亲体，自然种质退化严重，对病害和环境胁迫的防御能力下降。病害发生日趋严重，对虾病毒病在我国广大海区连续6年肆虐，至今还无良策可治；扇贝大规模死亡也日益严重，山东1998年部分海区扇贝死亡达80%；即使刚刚兴起的海水鱼类养殖也开始遭受疾病的困扰；海水养殖病害造成的经济损失上百亿元。水域生态环境恶化和富营养化，无异是雪上加霜，严重影响了水产品的产量和质量，阻碍了水产品的出口创汇。病害、种质和种苗质量、养殖生态环境三大问题已经成为制约我国海水养殖业健康发展的主要瓶颈，其中病害成为当前最为突出和亟待解决的问题。如果有关的科学问题不能得到有效的解决，不仅海水养殖业持续发展受到阻碍，而且已直接威胁到现有产业的生存。

国家科技部十分重视国家经济发展过程中亟需解决的重大科学问题，1999年9月正式批准“海水重要养殖生物病害发生和抗病力的基础研究”项目列入国家重点基础研究项目规划中，予以支持。项目自1999年12月实施以来针对目前最突出的病害发生和危害问题，围绕病原致病机理、提高生物抗病力的途径、抗病品种培育和环境生态调控等科学问题，从病原、宿主和环境三方面入手，在分子、细胞、个体和群体不同水平上，就三者相互作用开展多学科交叉研究和综合分析，取得了一批较高水平的研究成果。例如，对扇贝大规模死亡原因进行了系统的调查分析，发现贝类体内有细小核糖核酸样病毒和立克次体；首次定位了对虾白斑杆状病毒WSSV的糖蛋白；查清了鱼类细菌性致病菌主要是弧菌；初步

查明了藻类体内多酚含量的增加与其免疫反应之间的关系；构建了中国对虾质粒和噬菌体 cDNA 文库，同时开展了中国对虾基因组的研究，首次在中国对虾中获得 31 个微卫星序列；利用基因枪的方法成功地将带有 GFP 报告基因的外源 DNA 转入中国对虾受精卵中，并在中国对虾幼体中得到表达；选育的子 4 代中国对虾的平均体长较对照组增长 7.7%，平均体重增长 13.25% 等。项目实施一年多来有 2 项成果获省部级科技进步奖，撰写论文百余篇，项目主要成员多次受邀参加国际、国内重要学术会议，交流研究的最新成果。此次出版的《海水养殖生物病害发生与控制》，受国家重点基础研究发展规划项目资助，收编了正在进行的“海水重要养殖生物病害发生和抗病力的基础研究”（973）项目部分研究成果及国内外的研究发展动态，基本反映了我国海洋生物病害发生和抗病力研究的最新进展。

尽管项目取得了可喜的成果，但由于养殖生物病害问题十分复杂，涉及病原、宿主、环境多方面因素，故所取得的这些进展仅仅是开了个好头，在今后的工作中仍需兢兢业业，努力攀登，以争取更大的成绩。

项目首席科学家

栢建海

2001 年 4 月 6 日于青岛

目 次

序	(1)
前言 实现健康养殖,走蓝色农业持续发展之路	(1)
第一章 海水养殖生物病因学和主要病原致病机理	(6)
第一节 国际贝类病害学研究和我国养殖扇贝流行病学研究	(6)
第二节 贝类的寄生虫病害	(15)
第三节 山东沿岸夏季栉孔扇贝大规模死亡原因的分析	(29)
第四节 病毒-细胞受体相互作用机制及其研究途径	(34)
第五节 噬菌体展示技术在水产病害上的应用	(43)
第六节 海水鱼类病原细菌免疫	(50)
第七节 水产动物致病性鳃弧菌的研究	(55)
第二章 海水养殖生物防御病原体反应的过程与特征	(65)
第一节 大型海藻病害的研究	(65)
第二节 海带复染的亚显微结构及多酚和多酚氧化酶的变化	(70)
第三节 虾、贝类免疫反应基础及作用	(74)
第四节 插核手术前后合浦珠母贝免疫水平的比较研究	(85)
第五节 合浦珠母贝酸性磷酸酶的分离、纯化及其性质研究	(92)
第六节 鱼类免疫系统及其疫苗免疫	(96)
第三章 海水重要养殖生物抗病力的遗传基础和选育途径	(104)
第一节 对虾基因组研究	(104)
第二节 对虾抗菌肽研究进展	(111)
第三节 中国对虾免疫诱导多肽的毛细管区带电泳差异显示	(118)
第四节 分子遗传标记在海洋生物种质改良中的应用	(123)
第五节 分子生物学和基因工程技术在水产病害研究上的应用	(133)
第六节 海水养殖生物的新品种培育	(137)
第七节 用基因枪将外源 DNA 导入中国对虾	(145)
第八节 条斑紫菜不同栽培品系的 RAPD 研究	(154)
第四章 环境胁迫对抗病力的影响机制和生态调控	(158)
第一节 水产养殖生态学	(158)
第二节 海水养殖污染问题与对策	(167)
第三节 环境胁迫对海水养殖动物抗病力和主要病原生物致病力影响	(176)
第四节 赤潮异弯藻对中国对虾感染白斑综合症病毒的影响	(189)
第五节 环境对 WSSV 病毒流行与传播的影响及控制措施	(194)

前言 实现健康养殖，走蓝色农业持续发展之路

1 健康养殖的重要性

自古以来，海洋就是中国人民“兴渔盐之利，行舟楫之便”的重要场所，但海洋资源比较充分的利用还是从中华人民共和国成立以后。据统计，1950 年海洋捕捞产量为 54.6 万 t，养殖产量为零。到 1997 年，中国海洋捕捞产量为 1 385.4 万 t，养殖产量为 791 万 t。目前，我国海洋渔业产值占海洋总产值的一半以上；大型海藻、扇贝养殖产量居世界第一；对虾养殖在暴发病毒病前，也曾居世界首位；海水养殖产量占全球海水养殖总产量的 46%。我国海水养殖产量从 1987 年的 192.6 万 t 增至 1998 年的 860 万 t，占海洋渔业产量的比重从 27% 升至 36.5%，预计到 21 世纪初将超过 50%。

海水养殖业已成为我国沿海地区经济发展的重要支柱产业。我国沿海地区海水养殖及相关产业的从业人员已达数百万人。海水养殖业的发展，大大缓解了解决食品安全对陆地农业的压力，并带动了与之相关的饵料、加工、销售、外贸出口等一系列产业的发展，增加了劳动就业机会，扩大了出口创汇，促进了沿海地区经济的发展。在我国，开展海水养殖的种类已有 50 余种，其中海带、紫菜，扇贝、牡蛎、鲍鱼、珠母贝等贝类以及对虾、牙鲆等占主要地位。养殖海带干品年产量早就超过 60 万 t，一直是世界第一；扇贝养殖规模占世界首位，总面积达 40 万亩（1 亩 = 666.6 m²），总产量达 73 万 t 以上（图 1 所示为 1985 ~ 1998 年我国扇贝的产量）；对虾的养殖面积达 240 万亩，1993 年对虾病害暴发以前，曾连续多年在养殖对虾总产量和人工培育幼体数量方面处于世界领先地位（图 2 所示为 1977 ~ 1997 年我国对虾产量）。今天，沿海地区的经济成为全国经济发展的先导，中国的沿海地区以占全国 13% 的土地面积，养活了全国 40% 的人口，创造了 60% 的国民生产总值。

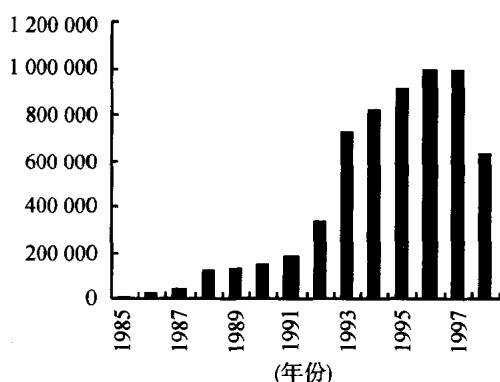


图 1 1985 ~ 1998 年我国扇贝产量（单位：t）

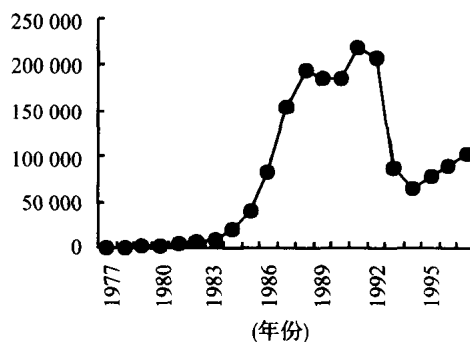


图 2 1977 ~ 1997 年我国对虾产量（单位：t）

2 健康养殖的紧迫性

大海是慷慨无私的，她为人类贡献了大量财富。然而，海洋的资源也并不是取之不尽、用之不竭的，必须取之有度，用之合理。如果人类无休止地从事掠夺式的开发，必然受到大自然的应有惩罚。在这方面，中国人民也有过深刻的教训。如曾在我国海洋渔业中占有重要地位的大黄鱼（Large Yellow Croaker: *Pseudosciaena crocea*）和小黄鱼（Small Yellow Croaker: *P. polyactis*）其最高

年产量分别达到 19.7 万 t (1974 年) 和 16.3 万 t (1957 年), 由于人为盲目地酷渔滥捕, 致使两种鱼类资源衰竭, 产量下降到自 80 年代以来, 仅 2 万 t 左右。显然, 为了确保海洋资源特别是可再生资源的常盛不衰, 为了子孙后代的繁衍与幸福, 中国海洋开发必须走可持续发展的道路。

海洋的可持续发展, 不仅要合理、科学地开发利用和保护资源, 更为重要的是必须保护和保全海洋资源赖以存在的海洋环境。人类的各种活动, 给海洋环境带来巨大变化, 不少是难以逆转的。中国于 1983 年颁布了海洋环境保护法, 各地依法加强了管理, 取得了一定成绩, 但所存在问题仍很严重: 污染的范围在不断扩大, 尤其是氮和磷, 到 1994 年, 整个中国近海无机氮的超标率高达 70% 以上; 海域的污损事件常有发生, 据不完全统计, 1980 ~ 1997 年, 在我国海域共发生赤潮近 380 起, 平均每年 20 余起, 其中 90 年代后, 每年上升到 30 余起。污染的主要来源起自陆上。如 2000 年春季, 在我国香港和广东珠江口近海海域发生了特大赤潮, 引起世界的关注。成也萧何, 败也萧何。随着海水养殖业的迅速发展, 基础理论研究严重滞后的负面效应日益显露。由于绝大多数苗种繁育依赖野生亲体, 自然种质退化严重, 对病害和环境胁迫的防御能力下降。病害发生日趋严重, 对虾病毒病在我国沿海地区连续 6 年肆虐, 至今尚无良策; 对虾养殖产量从高峰时期的每年 20 万 t 降至 1993 ~ 1994 年的 5 ~ 6 万 t。虽然从 1995 年以后, 由于养殖技术和虾病防治手段的不断提高, 我国的对虾养殖业有所恢复, 但至今不能从根本上摆脱困境, 养殖对虾产量仍然徘徊在 7 ~ 8 万 t 的水平, 也没有解决病毒性虾病的有效手段。同时近几年, 浅海的筏式扇贝养殖和网箱养鱼病害也开始频繁发生。1997 ~ 1998 年, 病害使我国北方扇贝养殖产量减产 50%。1998 年, 病害仍然继续加剧, 养殖海区扇贝死亡率达 50% ~ 90%, 甚至有的地区扇贝绝产, 造成的直接经济损失达百亿元。水域生态环境恶化和富营养化特别是赤潮频发, 无异于雪上加霜, 严重影响了水产品的产量和质量, 阻碍了水产品的出口创汇。病害、种质和种苗质量、养殖生态环境三大问题已经成为制约我国海水养殖业健康发展的瓶颈, 其中尤以病害成为当前最为突出和亟待解决的问题。如果有关的科学问题不能得到有效的解决, 我国的海水养殖业不仅难以健康发展, 而且还有可能发生严重滑坡, 直接威胁到现有产业的生存。

将病原检测与控制、健康种苗培育、优质抗病品种的选育、科学合理的养成技术、育苗与养殖设施工程和养殖环境的整治与调控加以综合集成; 将成熟实用技术、先进适用技术和高新技术加以集成和组装, 实施健康养殖, 势在必行。

3 健康养殖的内涵

健康养殖包含两方面的含义, 一方面是指使用以有效防治为主的措施, 在养殖过程中消灭病原、改良养殖环境的各项理化因子, 消除发病因素, 使养殖生物能在无污染的、近似自然的、无胁迫环境下健康生长。另一方面是指养殖出来的供人们食用的水产品是健康的、安全的, 符合国家食品安全检查标准的绿色食品, 这一点对即将加入 WTO 的中国尤显重要。

可以把健康养殖形象地比喻成一个木桶, 我们称其为“木桶效应”。生态环境调控、增养殖技术、病害防治、遗传育种、营养饲料等构成了木桶的基本框架, 养殖环境的容纳量构成了木桶的箍, 维持着木桶整个结构和它的基本功能。而木桶的内容物则是海水养殖业, 内容物的多少取决于构成木桶材料中各木板的高低程度。从现今情况来看, 种苗可能是这个系统的最主要制约因素。健康养殖的木桶效应示于图 3。

应该说健康养殖也是一个系统工程, 需通盘考虑, 整体规划, 并不是一项或几项技术就能解决的, 也不是单单使用了几种药物就能起作用的, 而应该是一整套系统全面的、科学合理的措施。包括在生态环境调控、增养殖技术、病害防治、遗传育种、营养饲料等方面进行综合性的研

究。所以说，健康养殖又是一个“链条效应”。饵料与营养、病害控制、种苗、养殖技术、管理这几项只有在养殖环境中有机地结合才能形成一个健康的养殖业。种苗和病害控制无疑是最重要的两环，但无论哪一环节上出了问题，都将影响到整个养殖业。健康养殖的链条效应示于图 4。

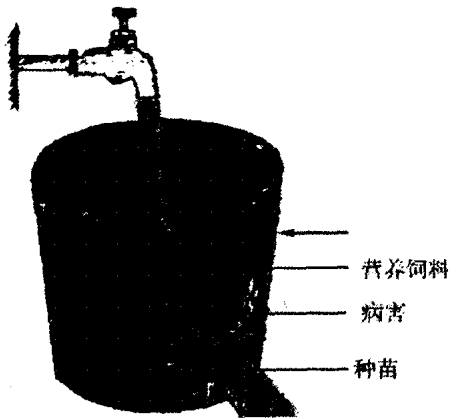


图 3 健康养殖的木桶效应

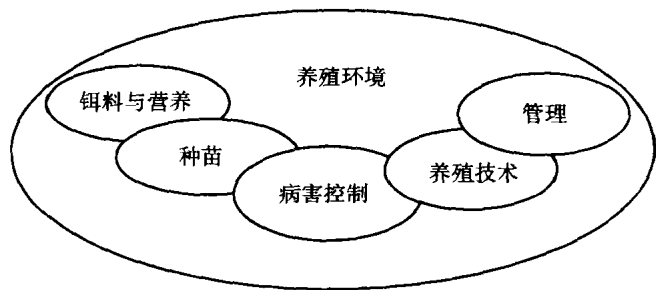


图 4 健康养殖的链条效应

这里应特别提及的是养殖生态环境的调控。环境是生物生活的载体，它为生物提供饵料、氧气和栖息地等生存必需的物质条件，同时也是生物体排泄废物的垃圾场。对于环境对生物体的这种双重作用，我们必须加以科学的、合理的调节和控制，才能在不污染环境的情况下取得养殖生物的最大产量，实现可持续发展的健康养殖。实际上环境是整个健康养殖系统工程的基础，是发展其他技术和方法的平台。

4 健康养殖的途径和措施

我国海水养殖业的现状，既是科学家面临的一次挑战，也是中国海洋科学面临的一个发展的良好机遇，有远见卓识的志士仁人都清醒地认识到这一点。基础研究是产业立足和发展的根基，是原始创新的源泉。造成上述问题的根本原因是与此相关的众多学科基础研究滞后于产业的发展，失去了指导作用和超前地位。因此，针对我国海水养殖业和海洋生物资源利用存在的主要问题，围绕海水养殖生物种质资源和新品种培育、病害和环境等关键性问题，在已有的研究基础上，突出重点，运用现代科学技术的理论和研究方法，从不同的生物学层次进行深入综合的研究，乃是促进我国海水增养殖业健康发展和海洋生物资源持续利用的根本举措。攀登（B）计划“海水增养殖生物优良种质与抗病力的基础研究”（1994~1999）就是国家设立的第一项重大基础研究项目。

在“九五”期间（1996~2000年），政府加大投资，安排了一批重要研究项目，涉及海洋生物学研究的就有：国家“863”海洋领域海洋生物技术主题（1997~2000年）；国家“九五”攻关项目“海水资源综合利用关键技术研究”和“海岸带资源环境利用关键技术研究”（1996~2000年）；国家自然科学基金重大项目“渤海生态动力学与生物资源持续利用”（中国的 GLOBEC 项目，1996~2000年）和“中国沿海典型增养殖区有害赤潮发生动力学及其防治机理研究”（中国的 HAM 项目，1996~2000年）；国家科研专项“南沙群岛及其邻近海区综合科学考察”和我国海洋经济专属区和大陆架勘测专项中有关渔业资源调查项目等。

要促进我国海水增养殖业健康发展，实现我国蓝色农业的可持续发展，笔者认为必须做好以

下几方面的工作。

(1) 健康苗种培育和选育优质、高产、抗逆的海水养殖品种是基础。

重要鱼虾贝藻优良种苗的规模化高效人工繁育, 是海水增养殖业发展以及养殖规模和产量提高的技术关键, 需利用现代海洋生物技术, 对传统的种苗繁育技术进行改造, 并增加、引进新的优良增养殖品种, 解决其种苗规模化人工繁育技术, 保证增养殖的种苗供应。对我国重要养殖品种利用细胞和基因工程等进行高产抗病优良品种的选育和杂交, 对重要养殖性状如生长和抗病进行品种选育, 并利用分子遗传技术对重要养殖性状进行分子遗传标记, 最终选育、杂交培育出生长快、高抗病、适应于集约化养殖的优良品种。

(2) 优化养殖环境是关键。

我国海水养殖业在发展的同时, 对养殖对生态环境的效应重视不够, 在有限的水体中, 几乎无限地增大养殖密度, 不但未能增加产量和经济效益, 反而由于超过养殖水体养殖容量, 导致养殖个体逐年减小、养殖周期加长、产品质量下降、养殖水体自身污染严重、养殖死亡率升高等问题的发生。浅海和海湾是我国海水高密度养殖的区域, 由于可持续增养殖技术落后, 致使养殖水域生物多样性发生了较大变化, 生态失衡, 反过来又制约了海水养殖业的发展。因此, 根据养殖水域生态容纳量, 进行养殖品种合理布局和养殖优化组合, 调控并维持良好的生态环境, 防止养殖系统水域生态失衡和自身退化, 从而防止病害发生, 提高海水养殖效益和生态环境效益, 是我国海水养殖业的健康持续发展重大战略问题。海湾容纳量研究开始于 20 世纪 80 年代初, 主要是以红树林对养殖对象的支持能力为研究对象。近些年来, 研究侧重点为养殖对象对养殖生态系统的影响, 研究养殖系统水交换和营养物质运移机制, 对主要养殖品种的能量消耗和物质供需进行测定, 从而建立生态养殖优化模式和养殖容量评估技术、养殖环境质量评价及生态调控技术。

(3) 高效饵料的投喂是保障。

投喂人工优质配合饵料代替鲜活饵料, 能够增强养殖生物的抗病能力, 减少残余饲料在养殖环境中的污染。同时, 高效人工饵料在养殖生物各生长期提供了充足的营养供应, 克服了鲜活饵料由于营养不全面而引起的营养性疾病, 在一定程度上增强了养殖生物机体的免疫力, 提高了养殖生物抗病毒能力。

(4) 合理养殖模式的建立。

① 高效全价生物饵料及人工配合饲料

建立仔、稚鱼和虾贝系列饵料体系, 探明不同食性类型仔、稚鱼阶段营养需求, 建立植物饵料、动物饵料和人工合成微颗粒饵料生产体系, 包括植物、动物饵料稳定化的生产工艺、强化措施, 合成微颗粒饵料配方及生产工艺等。

② 特定海区养殖系统优化技术

研究港湾、池塘、浅海和滩涂潮间带不同养殖系统中, 生态环境因子与养殖生物间的相互影响机理及变化趋势, 探讨养殖密度, 养殖种类构成、饵料种类及投放量对养殖水环境及沉积环境的影响, 建立完整、系统的特定海区海水集约化养殖优化技术。

③ 外海网箱养殖技术的建立

浅海由于污染和养殖密度过大, 目前有不少地区已出现超生态负荷养殖, 导致病害频发, 效益下降。扩大养殖面积, 走出日趋拥挤的浅海区, 向深水扩展, 是 21 世纪的必由之路。深水养殖主要指深水平台、深水网箱和深水网箱养殖技术。重点解决 20 m 等深线以外海域的养殖工程。研制深水平台的设计、施工工艺。抗 10 m 风浪 1 万 m^3 的大型网箱系统设计及制造和现场安装工艺, 以及配套的自动投饵机等。研制深水水下封闭式网箱和为抗风浪自动下沉到一定水深的封闭

式网箱，以及相应的投饵系统等。

5 生物技术在健康养殖系统工程中的作用

海洋生物技术作为新的高技术领域，进入 20 世纪 90 年代以来，在海洋水产养殖、海洋天然产物开发和海洋环境保护三方面成为世界各国竞相发展的热点。海洋生物技术是利用海洋生物或其组分，生产有用的生物产品以及定向改良海洋生物遗传特性的综合性科学技术。国际海洋生物技术开始于 20 世纪 80 年代，目前正方兴未艾。当前的开发热点主要在利用细胞和基因工程等培育和选育优质、高产、抗逆的海水养殖品种；利用病害检测和防治技术以及海洋生物养殖工程实现持续健康养殖；开发海洋天然产物，用于保健、药物或制作功能产品；海洋生物环境的监测与治理。世界各国为 21 世纪海洋生物资源开发利用的发展，不断加大投入，强化研究，实现成果的产业化。我国政府于 1997 年正式批准海洋“863”高技术计划立项，内含海洋生物技术主题。本着“有限目标，突破重点”的原则，将海水养殖良种化、病害防治和海洋天然产物开发利用作为主攻目标。目前业已启动了“海水养殖动物多倍体育种育苗和性控技术”作为重大项目，主要研究牡蛎、扇贝、珠母贝和鲍的三倍体、四倍体，对虾的多倍体和性控，以及牙鲆的性控等关键技术，同时要尽早实现某些技术成果的产业化。传统的水产养殖业基本处于自然或半自然状态下的高风险、分散经营状态。不仅海洋资源的利用率极低，而且对自然环境尤其是对沿海滩涂破坏严重，养殖品种迅速退化，抗病力降低，生长速度迅速减慢，产量减少，效益下降。对环境的污染非常严重，常造成养殖水域的富营养化及滩涂的荒芜。通过使用海洋生物技术，可以改良养殖品种，对病害进行预测预报，实现健康养殖。同时，通过海洋生物技术的应用进行工厂化育苗，大规模培养更适口的自然饵料，对于养殖环境的改善与保护具有重大作用。首先是从大生态系统的角度防止海水养殖环境的污染与恶化，此外从养殖生态系本身的改善，构建良性的人工生态系统，实现高产、稳产，两个方面都需要借助生物技术手段，建立起环境监测与污染防治的生物工程系统。工厂化、高科技育苗不仅可以提高亲体的利用率和幼体成活率，还可以减少能源消耗，防止水体和大气的污染。而自然饵料的大规模培养，可减少非生物性蛋白质对水体的污染，防止富营养化及赤潮的发生。防止环境污染最根本的问题是减少人为破坏和污染源的产生。总之，海洋生物技术在海洋环境保护中的作用会越来越大。

相建海（中国科学院海洋研究所）

第一章 海水养殖生物病因学和主要病原致病机理

第一节 国际贝类病害学研究和我国养殖扇贝流行病学研究

1 引言

国际上,海洋贝类病害学(marine shellfish diseases)研究从20世纪20年代始至今大致已经历了3个发展阶段,笔者曾经在1995~1999年就国内、外贝类病害学研究的现状和成就进行过系统的回顾与综述(吴信忠等,1995,1997a, b和1999),但近两年来,国际贝类病害学研究又有许多新的进展和突破,本文就这些新进展并结合国家“973”项目“扇贝大规模死亡的流行病学研究”所取得的阶段性的突破和成果综述如下。

2 国际贝类病害学研究的新进展

2.1 病原生物学研究

2.1.1 立克次体感染与立克次体病

自1977年Harshbarger等首次报道贝类立克次氏体(RLO)以来,目前全世界已在大约25种贝体内发现RLO,其中在扇贝、巨蛤、鲍鱼、珍珠贝、牡蛎等方面都报道发生过严重的疾病和死亡。近两年来这一领域更是研究进展最快的,1995年Gardner等首次发现美国黑鲍(*Haliotis cracherodii*)的萎缩病的病原是类立克次氏体(RLO)以来,近两年国外学者先后报道了由类立克次氏体萎缩病引起红鲍(*Haliotis rufescens*)、黄鲍(*Haliotis corrugata*)、绿鲍(*Haliotis fulgens*)的严重死亡(Moore等,2000; Cáceres Martinez等,2000; Finley等,2000)。在国内也报道了类立克次氏体感染引起杂色鲍(*Haliotis diversicolor*)的萎缩、溃疡病变(吴信忠,2000a)和近江牡蛎(*Crassostrea ariakensis*)的类立克次氏体病(吴信忠等,2000b)。另外,在日本也已经报道了日本黑鲍(*Nordotis discus discus*)、*H. discus discus*、*H. discus hannai*、*H. madaka*和*H. gigantea*等发生类似的肌萎缩病(amyotrophy),并认为该病的病原是经水媒介水平传播的,其病原体尚未能确定,但观察到一种异常的细胞,这种异常的细胞内有的可见到类似病毒样的颗粒(Nakatsugawa等,2000; Momoyama等,1999)。在法国,1999年报道了贻贝(*Mytilus galloprovincialis*)的RLO感染(Comps等,1999)。

关于立克次氏体病的特征主要有两点:一是在临床上主要呈现萎缩症状,如在珍珠贝呈现内脏团瘦弱,外套膜变薄,鳃枯萎,贝壳未张口时,敲之呈空音(吴信忠等,1999);在鲍鱼呈现饥饿状如瘦弱,不活动,极度缩小的上足,外套膜萎缩,生殖腺发育差等(Haaker等,1992, Moore和Robbins,2000)。二是在病理学上,在珍珠贝呈现急性变质性炎症(如细胞坏死、崩解、组织结构萎缩与疏松化)和慢性纤维组织增生性炎症(吴信忠等,1999);在鲍鱼呈现足肌纤维退变、结缔组织增生修复替代和肝胰腺组织被结缔组织或低分化粘液组织增生修复替代(Gardner等,1995)。

2.1.2 细菌性疾病

褐环病(Brown Ring Disease, BRD)是20世纪90年代首先在法国和西班牙报道的发生在蛤类中的重要细菌病[如马尼拉蛤(*Ruditapes philippinarum*)、毯壳蛤(*R. decussatus*)等],该病的

主要特征是发病贝体壳内面的壳基质呈褐色的环状沉积。关于该病的病原曾有各种说法,有的认为是寄生虫(如原虫、才女虫、吸虫),有的认为是真菌。现在西班牙和美国的学者证明了引起 BRD 的病原是细菌,为一种弧菌 *Vibrio tapetis* (Paillard 等, 1989, 1990)。最近,有学者从上述两种蛤内已经鉴定出了 4 个 *Vibrio tapetis* 株 (Novoa 等, 1998)。

1992 年曾经报道了一种未知的牡蛎幼体病 JOD (Juvenile Oyster Disease), 最近 (1999 年) 采用基因鉴定技术显示它是由一种新的细菌 α -蛋白菌 (α -proteobacterium) 引起的 (Boettcher 等, 1999)。

在贝类中报道的细菌性疾病是非常少见的, 而且发生在成贝当中的细菌病则更少见, 到目前报道的细菌病除了上述的 JOD 病原是 α -蛋白菌和土壤丝菌病 (Norcardiosis) 的病原为真菌外, 其余发现的就是由弧菌 (*V. anguillarum*、*V. alginolyticus*、*V. tapetis*、*V. pectenica*) 引起的牡蛎弧菌病, 其中仅有两种在成贝中发生。

需要说明的, 自 1997~1998 年开始, 在美国纽约州和得克萨斯陆续发生当地居民因食用含有副溶血弧菌的牡蛎海鲜食品而发生肝炎、胃肠炎和中毒等人群的公共健康卫生问题, 但并未发现牡蛎死亡的问题 (French, 1999)。

2.1.3 病毒感染和病毒病

国际上有关贝类病毒感染和病毒病的报道是比较少见的, 最主要的是 20 世纪 80 年代以后报道的几种虹彩病毒病。最近 (Novoa 和 Figueras, 2000), 在毯壳蛤体内发现含有无囊膜的病毒样颗粒, 其特征认为属于 Picornaviridae 科的病毒种类, 它与蛤类的死亡有关。从人群公共卫生角度, 最近从长牡蛎体内分离到能引起人患胃肠炎、肝炎的肠病毒, 即 F-特异性 RNA 噬菌体 (Dore 等, 2000) 和从美国东部牡蛎 (*Crassostrea virginica*) 体内分离到引起人胃肠病的 Norwalk 样病毒 (Burkhardt 等, 2000), 但未报道其对牡蛎群体的危害。

2.1.4 寄生虫病

在贝类寄生虫病研究中, 最近陆续报道一些重要的发现, 这包括:

(1) 涡虫病: 涡虫病是由涡虫 (turbellarian *Urastoma cyprinae*) 引起的贝类疾病, 目前已经报道的有数种贝类, 如东部牡蛎 (*Crassostrea virginica*) 和贻贝种类包括 *Mytilus galloprovincialis*、*M. californianus*、*Perna viridis*, 该虫可以引起贝类严重的死亡, 其虫主要危害宿主的鳃部, 有鳃虫 (gill-worm) 之称 (Robledo 等, 1994; Brun 等, 1999a; Choo, 1998; Cáceres-Martínez 等, 1998; Canestri Trotti 等, 1999; Comps 和 Tige, 1999)。

(2) QPX: 是一种至今仍尚不清楚的原生生物寄生虫。在 20 世纪 50 年代末至 60 年代初, 在加拿大 St. Lawrence 河发现一种硬壳蛤 (*Mercenaria mercenaria*) 的原生生物病。1989 年在加拿大爱德华王子岛再次发现该病, 引起孵苗期蛤严重的死亡, 这种寄生虫被命名为 QPX (Quahog Parasite Unknown), 在蛤组织内 QPX 呈球形, 被一个细胞壁包绕, 有的较大型的, 含有多核, 目前其分类地位尚不清楚, 初步将其定为 Thraustochytriales 或 Labyrinthulales。该寄生虫到目前为止, 已在加拿大、美国的一些沿海地区发现, 其引起蛤的死亡率超过 75% (Whyte 等, 1994; Roxanna Smolowitz 等, 1998; Bacon 等, 1999)。

(3) 单孢子虫新种类的发现: 自从 20 世纪 50 年代以来, 单孢子虫病一直是国外贝病学研究的最重要的原虫病, 其种类繁多, 主要包括 Bonamia 原虫病、MSX 原虫病和马太尔 (Marteilia) 原虫病等三大类。近年来, 又有新的单孢子虫种类和新的宿主种类被发现报道, 如悉尼岩石牡蛎 (*Saccostrea commercialis*) QX 病的病原是悉尼马太尔虫 (*Marteilia sydneyi*) (Kleeman 和 Adlard, 2000), 在澳大利亚养殖的大珠母贝 (*Pinctada maxima*) 首次报道了单孢子虫, 但其分类地位尚

不清楚 (Hine 和 Thorne, 1998)。

(4) 帕金原虫新种类的发现: 帕金类原虫属于顶复门 (Apicomplexa) 帕金科 (Perkinsiidae) 帕金属 (*Perkinsus*), 是另一类很重要的原虫, 从 20 世纪 50 年代就对其进行了系统的研究, 最近在加拿大养殖的日本扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 发现 *Perkinsus qugwadi* 原虫病 (Bower 等, 1999)。此外, 在贻贝体内也发现顶复门的另一类原虫——簇虫 (Gregarinnida) (Canestri-Trotti 等, 1999)。

(5) 体外寄生虫——车轮虫: 在法国养殖的长牡蛎的鳃中发现有车轮虫侵袭寄生, 流行率最高达 70% (Boussaid 等, 1999)。

2.2 流行病学研究

贝类病害学研究中经典的流行病学研究工作主要是在贝类原虫病方面进行的。最近, MSX 单孢子虫病的流行病学研究又有明显的突破性进展, 最主要的工作就是建立了一系列的模型, 这些模型包括模拟宿主-寄生虫-环境相互作用的数学模型、模拟寄生虫在美国切萨皮克湾和特拉华湾传播模型和通过宿主-寄生虫模型调查控制寄生虫在上述两个海湾牡蛎群体的流行率和感染程度。通过这些模型可以准确地模拟寄生虫在牡蛎群体中感染的时间、寄生虫其感染程度和流行率沿海湾的梯度、影响寄生虫传播过程与寄生虫虫体发育、虫群补偿等的关键性环境因子等, 为寄生虫病的控制提出了一系列的管理措施 (Powell 等, 1998, 1999; Hofman 等, 1998; Ford 等, 1999a, b)。

通过流行病学调查研究, 又发现了许多原虫病的新疫区, 如已证明 MSX 在美国康涅狄格州海岸和帕金病在北方长岛的新流行区 (Karolus 等, 1999; Sunila 等, 1999); 在爱尔兰又发现了许多欧洲扁牡蛎养殖区有 *Bonamia* 原虫病流行 (Culloty 和 Mulcahy, 1999); 在帕金原虫病还研究了寄生虫在潮间带河流区的传播动力学 (Bushek 等, 1998)。流行病学也证明, 帕金原虫和 MSX 单孢子虫在潮间带人工礁养殖牡蛎中的发病明显降低 (Volety 等, 1998)。

类立克次氏体病的流行病学研究也取得了长足的进展。在美国已经对红鲍、绿鲍和黄鲍的养殖群体和自然群体中类立克次氏体的流行率和流行强度及红鲍类立克次氏体病的地理分布等进行了较详细的研究, 同时也较详细地研究了温度诱导对患立克次氏体萎缩病的红鲍的影响。调查发现, 在 1997~1998 年间, 伴随厄尔尼诺现象海水温度升高的情况下, 发生萎缩病症状的红鲍明显增加。检查 5 个养殖场 66 个红鲍, 发现有严重萎缩病症状的鲍鱼体内有更明显的 RLO 感染。实验研究的结果也发现, 温度升高, 其鲍鱼体内 RLO 感染加重, 且显示更明显的萎缩病体征。这证明, RLO 感染在鲍鱼萎缩病因中起了关键的作用。同时, 温度升高加强了 RLO 感染致病效应的严重程度 (Moore 和 Robbins, 2000)。血瘤是贝类中一种重要的疾病, 在美国, 以前砂海螂 (*Mya arenaria*) 性腺血瘤仅在缅因州被报道, 最近报道的一项 1989~1997 年进行的调查显示, 该种血瘤病沿着整个缅因州海岸和加拿大大西洋海岸之间分布, 调查 28 个地点, 有 6 个存在血瘤病, 其流行率为 3.3%~50% (Barber 等, 1999)。关于血瘤病的病因至今尚不清楚, 但现有几种建议: 一种认为是化学致癌物 (carcinogenic chemicals), 一种认为是与 C 型反转录病毒 (c-type retrovirus) 有关, 还有一种认为是与个体的遗传体质 (genetic disposition) 有关。最近通过对环境化学污染物和血瘤流行率的相关性的研究, 显示没有证据说明化学污染物诱导或促进贻贝 *M. edulis* 群体血瘤的发展 (Krishnakumar 等, 1999)。

2.3 病原生物致病机制的研究

关于单孢子原虫的致病机制, 认为活的寄生虫不是通过“伪装”就是通过“抑制”达到入侵宿主的目的, 如产生抑制性的物质、合成牡蛎样的分子或主动地吸附牡蛎分子到自身的体表。最

近,通过用酶或代谢抑制物处理原虫的原质团,来研究牡蛎血细胞对原虫的吞噬反应,认为原虫对宿主的致病机制除了上面的“表面修饰”机制外,还可能包括产生“干扰性分子”(interference molecules)(Ford等,1998)。

人们曾经发现暴露在帕金原虫(*P. m*)的二倍体和三倍体的长牡蛎其死亡率和流行率明显低于二倍体和三倍体的美国东部牡蛎。关于其机制有数种说法,最近人们通过分析原虫丝氨酸蛋白酶对两种牡蛎宿主的质膜蛋白的效应分析比较,证明了牡蛎的质膜蛋白是 *P. m* 蛋白酶的靶标,并认为在牡蛎的质膜中存在 *P. m* 蛋白酶的底物抑制物,而且这些抑制物是蛋白酶特异的(Oliver等,1999)。更最近的一份研究报告,根据上述研究结果,假设在美国东部牡蛎中的抗蛋白酶活性可能是一个重要的宿主防御因子,进一步确定是否这些抗蛋白酶可以作为帕金病抗性的生化标记,但得到的结果是疾病强度与蛋白酶抑制活性呈阴性相关,死亡方式也指明疾病强度与这种活性之间呈现反相关(Oliver等,2000)。另外一项研究认为,帕金原虫 *P. m* 的细胞及其胞外产物能够清除由牡蛎血细胞产生的活性氧衍生物(ROIs)或抑制 ROIs 的产生,而且虫体的酸性磷酸酶(AP)、过氧化物歧化酶(SOD)和其他抗氧化酶被认为起着清除或抑制宿主呼吸代谢的作用(Chu等,1998)。

关于涡虫纲涡虫 *Urastoma cyprinae* 对美国东部牡蛎宿主的损害机制则是非常有趣的,研究发现宿主鳃部的粘液对涡虫有明显的吸引作用(Brun等,1999a, b),其原因是涡虫是避光性的,易于在宿主体内避光生存,而鳃部粘液又正适合于虫体的摄食习性。研究还发现,牡蛎鳃部粘液含有许多活性成分包括3种蛋白酶,这些成分能够抵抗微生物的入侵,而由于虫体的感染存在恰恰改变了宿主鳃部粘液的蛋白酶组分(Brun等,2000)。

2.4 宿主抗病机制的研究进展

2.4.1 宿主免疫抗病机制

有关贝类宿主免疫的抗病机制包括宿主体液防御(或免疫)和细胞防御(或免疫)的机制及其参与的免疫因子和细胞类型,笔者曾有过综述(吴信忠,2000),现就最近的新进展进行介绍。

(1) 贝类宿主体液防御(humoral defense)机制

到目前为止,参与体液抗病或免疫的非特异性因子主要包括这样几大类:凝集素类(agglutinins)、调理素(opsonins)、溶菌和水解性酶类(如溶菌酶、蛋白酶、酚氧化酶等)、各种蛋白(包括应激蛋白或热休克蛋白、铁结合蛋白等)、免疫多肽即抗菌肽类(bactericidins)、抗寄生虫因子(antiparasitic factors)、裂解因子(lytic factors)等。

有关体液免疫抗病的最主要进展就是关于抗菌肽的研究,目前在贻贝体内已经分离鉴定了4类环肽家族的抗菌肽,包括4种防御素(defensins)、5种贻贝素(mytilins)、2种贻贝肽(myticins)和1种贻贝霉素(mytimycins)。抗菌活性谱显示,它们具有补体性抗菌活性,其中防御素和贻贝肽主要是抗革兰氏阳性细菌,而贻贝肽对革兰氏阳性和阴性菌均有活性。所有多肽是溶菌性的,但在溶菌活性动力学方面有差异(Mitta等,2000)。另一份报告显示,杆菌肽(Bacitracin)能够抑制牡蛎的病原帕金原虫 *P. m*,从而认为杆菌肽有希望用在原虫病的化疗上(Faisal等,1999)。目前,已经在海淡水贝类中提取到抗菌肽的贝类包括牡蛎、贻贝和蜗牛等。

体液抗病的另一项重要工作就是关于应激蛋白的研究。应激蛋白也称为热休克蛋白(heat shock proteins, HSP),该蛋白有一个70 kDa的家族即 HSP₇₀,现在证明当宿主如太平洋长牡蛎和美国东部牡蛎等处在高温状况下,宿主体内可以合成 HSP,从而产生对环境高温的耐受性(induced thermo tolerance, ITT)。最近的一份报告显示,当长牡蛎暴露在热休克当中, HSP₇₀家族至少延长长牡蛎对温度耐受到3周,低渗透压的驯化延迟了 HSP 产生和对致死性温度的耐受性;用土壤

丝菌进行感染试验的牡蛎合成 HSPs 的能力与未进行感染试验的动物相似，但患土壤丝菌病的牡蛎其高温耐受性的程度降低 (Friedman 等, 1998)。

关于酶活性的研究，最近对欧洲扁牡蛎和太平洋长牡蛎分别进行了许多种酶活性的调查。其中有 10 种酶显示相对高活性水平，这些酶中以游离于血淋巴液和血细胞内两种方式存在，感染 *Bonamia* 原虫的欧洲扁牡蛎酶活性高于健康的贝体，而长牡蛎的血细胞内酶活性高于欧洲扁牡蛎血细胞内的酶活性。后者部分有助于长牡蛎对原虫 *B.O* 感染的自然抵抗力 (Xue 等, 2000)。

(2) 贝类宿主细胞免疫防御 (cellular defense) 机制

贝类宿主细胞免疫防御功能主要靠血淋巴细胞 (hemocytes) 完成的，血淋巴细胞发挥免疫防御的途径主要有三条：一是血淋巴细胞通过直接吞噬 (phagocytosis) 和破坏微生物病原的方式，在抗感染免疫中发挥作用；二是血淋巴细胞通过产生和释放具有抗菌活性 (microbial activities) 的物质而发挥抗感染免疫的功能，这些抗菌活性物质包括溶酶体酶类如酸性水解性酶类、活性氧衍生物 (ROIs)、髓磷脂过氧化物酶 (MPO)、酵母聚糖刺激的鲁类诺依赖的化学发光物质 (CL)、酚氧化酶等；三是血淋巴细胞在炎症 (inflammation) 中的成囊作用 (encapsulation) 和损伤修复 (wound repair) 作用。

泰国学者 (Sumolya Kanchanapangka 等, 2000) 对泥蚶 (bloody clam; *Anadara granosa*) 的血淋巴细胞进行研究，将泥蚶的血淋巴细胞区分为四大类，即未分化细胞、透明血细胞、小透明血细胞 (阿米巴细胞) 和颗粒血细胞。用大肠杆菌刺激，引起小透明细胞和透明细胞的聚集、透明细胞的胞质起泡和颗粒血细胞的吞噬活性。马尼拉蛤褐环病 (BRD) 由于弧菌在壳内面形成褐色壳基质沉积，最近研究者针对壳基质的病原与套膜腔液密切接触的情况，建立一种新的研究策略即研究套膜腔液中的防御因子，发现实验感染的贝体，在套膜腔液中反应性血细胞和高酶活性 (肽酶、水解酶类、裂解酶等) 的存在，在感染的贝体血淋巴和套膜腔液中，血细胞总数和死亡的血细胞数明显的变化，这提示在中和病原过程中防御系统发挥了效应，而且对 BRD 的抗性是与防御系统中的血细胞参数有关，尤其是与血细胞的数量和吞噬活性有关 (Allam 等, 1998, 2000)。最近，日本学者通过研究牡蛎在呼吸代谢过程中分子氧耗增加和过氧化物阴离子 (O_2^-) 的产生的机制，证明了辅酶 II 氧化酶样活性 (NADPH oxidase-like activity) 在长牡蛎血淋巴细胞内存在，由于 NADPH 氧化酶活性是与哺乳动物吞噬细胞内 O_2^- 形成系统有关的，因此说明牡蛎血淋巴细胞在功能上与哺乳动物吞噬细胞是类似的 (Takahashi 和 Mori, 2000)。

一份有关不同细菌病原种类与贝类血淋巴细胞相互作用的研究报告发现，细菌病原与贝类血淋巴细胞的作用是具种特异性的，因此认为这可以作为研究病原生物致病性机制的一个有用的模型 (Lane 和 Birkbeck, 2000)。

需特别指出的是，过去一直被假定在无脊椎动物当中后天获得性免疫是不存在的，其原因是它们缺少免疫球蛋白 (Ig)、T 细胞受体 (TCR) 和主要组织相应性复合物 (Mhc) 多样性分子。但是最近的一份报告，对这一问题进行了详细的研究和回答，提出了“在无脊椎动物当中可能存在一种独特形式的获得性免疫”，其依据是在无脊椎动物当中，存在粘附性免疫球蛋白超家族 (adhesion Ig super family, IgSF)，而 IgSF 在哺乳动物当中据知是包括在获得性免疫当中的。这一研究对于从观念上正确理解评估无脊椎动物的免疫进化和在实际上发展免疫接种预防疾病的策略具有重大的意义 (Mário Arala-Chaves 和 Sepueira, 2000)。

2.4.2 遗传抗病机制的研究

从遗传学角度，通过筛选培育抗病品系，寻找抗病基因等手段，来达到控制病害，在陆地农业领域已成为现实，最突出的例子，就是我国在 20 世纪 90 年代末培育的抗棉铃虫的“抗虫棉”。