

对虾杆状病毒感染螃蟹组织的电镜观察*

国际翔 王丽霞 李文清 刘 丹 王书锦

(中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110015)

【摘要】 应用电子显微技术对人工养殖对虾池内的感病螃蟹作了组织切片的电镜观察, 发现肝脏、胃、肠组织细胞核内和肌纤维间质中有大量杆状病毒。电镜下的病毒粒子的形态、大小与在中国对虾体内观察到的无病毒包涵体杆状病毒一致。

关键词 中国对虾 杆状病毒 包涵体 螃蟹 电子显微技术

Observation of prawn baculovirus infecting crab tissue by TEM. Guo Jixiang, Wang Lixia, Li Wenqing, Liu Dan and Wang Shujin (Institute of Applied Ecology, Academia Sinica, Shenyang 110015). -Chin. J. Appl. Ecol., 1995, 6(3): 305-307.

The ultrastructure of different tissues of diseased crabs in cultured prawn ponds is observed by using TEM. A number of baculovirus are found in cell nuclei of liver, stomach, intestine and muscle of diseased crabs. No difference in aspect of viral shape, size and other characteristics, such as infecting nuclei and absence of inclusion bodies between baculovirus found in diseased crabs and those in *Penaeus chinensis* was observed.

Key words *Penaeus chinensis*, Baculovirus, Inclusion body, Crab, TEM.

1 引言

对虾杆状病毒是1种能感染多种对虾类组织细胞的病毒,在亚洲、美洲及太平洋等地的养殖对虾中都有该病发生^[1]。1993-1994年辽宁沿海人工养殖对虾连续发生了暴发性流行病害,1994年6月又在锦州、庄河地区发病养虾池内发现螃蟹死亡。为查清螃蟹死亡与对虾暴发性病害是否由同一病原体所致,对感病螃蟹肝脏、胃、肠和肌肉组织切片超微结构作了观察,并用感病螃蟹破碎组织饲喂中国对虾,进行回接感染实验,现将结果报道如下。

2. 材料与方法

2.1 供试材料

经鉴定,锦州病蟹为方蟹科天津原蟹,庄河病蟹为方蟹科隆背张口蟹^[1]。蟹体(宽度)分别为8和25mm。病蟹蟹体灰暗,眼无光,行动无力。样品

选尚未死亡的螃蟹固定,作电镜观察,另取一些病蟹置0℃冰箱中保存,作回接感染对虾实验。

2.2 超薄切片制备

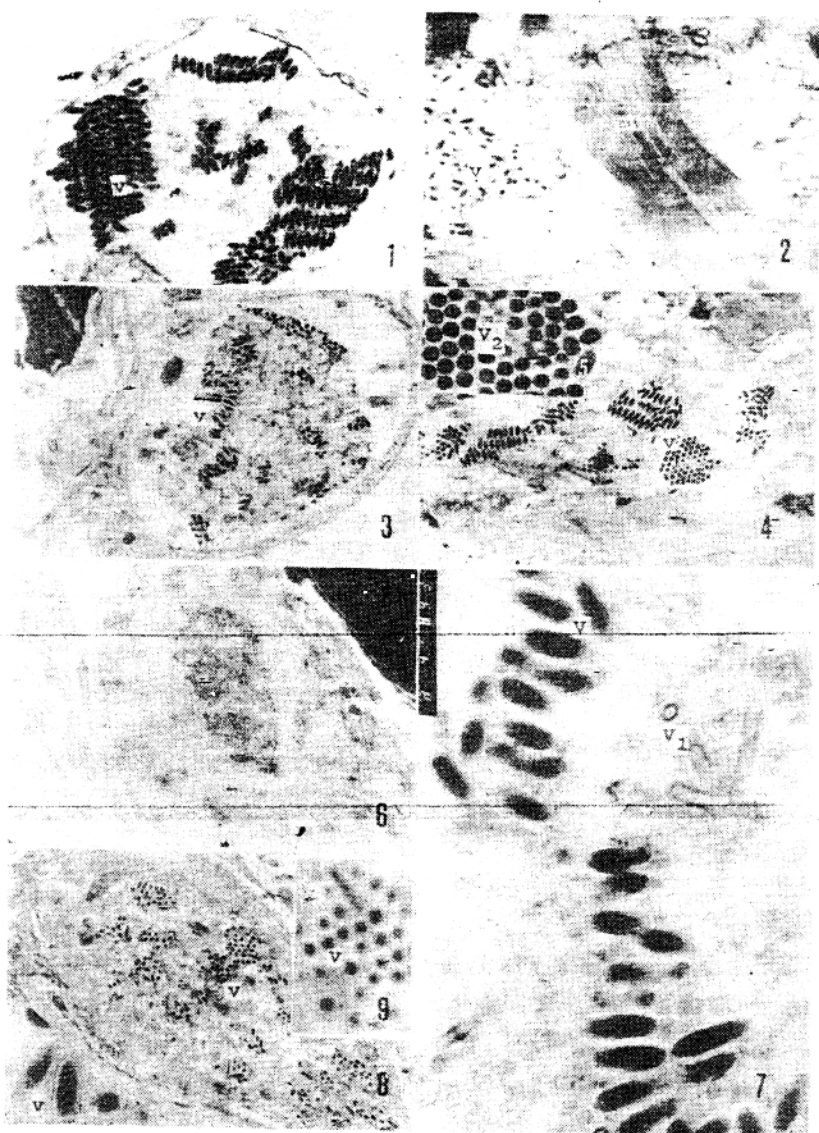
样品选择尚未死亡的感病螃蟹,用池水洗净,放Davidson固定液^[2]中带回实验室解剖,分别取肝脏、胃、肠和肌肉切成1-2mm²小块放入2%多聚甲醛与2.5%戊二醛的混合固定液中再固定,于4℃冰箱中4-8h。取出固定的样品用缓冲液反复冲洗后,再放1%的锇酸中固定2h,洗去表面锇酸,用乙醇-丙酮系列脱水至100%丙酮,用贮藏的Epon812环氧树脂包埋剂浸透(在自制的旋转倾斜装置上,35℃,2h),包埋,固化。用LKB-8800Ⅰ型超薄切片机切片,切片经双重染色,置于JEM-100B透射电镜下观察。

2.3 回接感染健虾实验

从未发病虾池选健康中国对虾,先在水族箱中观察3天,从中选择10尾(体长平均3.8cm),分两组,实验组用感病螃蟹去壳切碎作健虾饵料,

* 国家“八·五”攻关项目。

1995年3月6日收到,5月8日改回。



图版说明: 1. 螃蟹肝脏组织细胞核内的大量杆状病毒($\times 12000$), 2. 螃蟹肌纤维(MF)间质中的杆状病毒($\times 8200$), 3. 螃蟹肠上皮细胞核内杆状病毒($\times 8000$), 4. 螃蟹胃上皮细胞核内杆状病毒($\times 8000$), 5. 图4局部放大, (V_2)无外膜的核衣壳(横切面)($\times 30000$), 6. 肠上皮细胞核内出现病毒发生基质($\times 10000$), 7. 病毒粒子的放大, (V)装配完好的病毒, (V_1)未装配好的病毒(纵切面)($\times 55000$), 8. 中国对虾肠上皮细胞核内杆状病毒($\times 8000$), 9和10. 图8的局部放大, 9为横切面($\times 35000$), 10为纵切面($\times 50000$).

Explanation of Plate: 1. Baculovirus in cell nucleus of liver of diseased crab ($\times 12000$), 2. Baculovirus in intermediate tissue of muscle fiber (MF) of diseased crab ($\times 8200$), 3. Baculovirus in cell nucleus of enteric epithelium of diseased crab ($\times 8000$), 4. Baculovirus in cell nucleus of gastric epithelium of diseased crab ($\times 8000$), 5. Magnification of figure 4, (V_2) nucleocapsid without envelope (transverse section) ($\times 30000$), 6. Virogenic stroma in cell nucleus of enteric epithelium of diseased crab ($\times 10000$), 7. Magnification of virus particle, (V) whole baculovirus, (V_1) baculovirus without assemblage (vertical section) ($\times 55000$), 8. Baculovirus in cell nucleus of enteric epithelium of *Penaeus chinensis* ($\times 8000$), 9, 10. Magnification of figure 8; 9. Transverse section ($\times 35000$); 10. Vertical section ($\times 50000$).

对照组健虾用人工合成饵料。

3 实验结果

3.1 电镜观察结果

从 9 只感病螃蟹的肝脏、胃、肠组织细胞核和肌纤维间质中观察到大量的杆状病毒 V, 其两端呈钝圆形, 大小为 $210 - 320\text{nm} \times 65 - 110\text{nm}$ 。病毒粒子的中央是高电子密度的核衣壳, 其外是由内外膜构成的包膜, 电子密度较低(图版 7)。病毒粒子在细胞核内成簇状分布, 不形成病毒包涵体(图版 1、3、4)。在细胞核内也见未装配好病毒 V₁(图版 7)。在同时采集的感病中国对虾的胃、肠上皮细胞核内也看到相同的杆状病毒(图版 8)。

3.2 病蟹组织的超微病理

从组织切片的电镜观察, 对虾杆状病毒感染螃蟹组织后, 其主要病理变化是受感染的细胞核肥大、变形, 染色质及核仁随之解体(图版 1、3、4)。在细胞核受感染的早期可见核内出现的病毒发生基质(图版 6)。由于细胞核的肥大, 细胞质中的细胞器被挤向细胞膜的边缘, 发生畸变(图版 3、6)。肌肉受病毒感染后, 肌纤维变形, 肌节间 Z 线不明显, H 带消失(图版 2)。

3.3 回接感染健虾实验结果

在感病螃蟹体内检测出杆状病毒后, 用保存在 0°C 冰箱的病蟹去壳切碎作饵料, 于 1994 年 6 月 17 日喂食 5 尾中国对虾, 24 日开始出现症状, 警戒反应迟钝, 对灯光刺激无反应, 摄食差, 至 7 月 3 日陆续死亡, 可明显看出死虾的胃肠道瘪无物, 肠

发白。喂食人工合成饵料的对虾未见死亡。

4 讨 论

通过 9 只病蟹的组织切片观察, 所见的杆状病毒在蟹体内主要感染的器官也是胃、肠的上皮细胞, 感染部位是细胞核。病毒的复制在细胞核, 在其寄生组织生活史中也不形成病毒包涵体, 与所报道的无包涵体杆状病毒基本一致^[2-5]。根据病毒的分类命名^[6], 在感病螃蟹体内所发现的杆状病毒也属于杆状病毒科无包涵体型杆状病毒 C 亚群。

感染螃蟹组织的杆状病毒仅作了组织切片的电镜观察及初步的回接感染中国对虾的实验。这一寄主与养殖对虾暴发性流行病害的关系有待深入研究。

搞清对虾杆状病毒寄主范围和特异性, 对研究该病毒的传播和流行规律, 及提高对虾病毒病的防治效果具有实际意义。

致谢 感病螃蟹样品由锦州市水产研究所孙伯伦、辽宁省海洋水产研究所严隽箕先生协助采集, 回接感染对虾实验由孙伯伦先生协助完成, 在此一并致谢。

参考文献

- 1 沈嘉瑞等. 1964. 中国动物图谱(第 2 册). 科学出版社, 北京, 125-139.
- 2 国际翔等. 1994. 辽宁沿海养殖对虾暴发性病害的病因分析. 电子显微学报, 13(5): 355.
- 3 国际翔等. 1994. 对虾杆状病毒感染寄主细胞的超微结构观察. 海洋科学, (6): 38-43.
- 4 张立人等. 1994. 东方对虾杆状病毒在宿主细胞内的装配. 电子显微学报, 13(5): 354.
- 5 黄旭田等. 1990. 养虾全集. 养鱼世界杂志社, 台北, 139-153.
- 6 R. E. F. 马修期编著(廖延雄等译). 1987. 病毒的分类与命名. 科学出版社, 北京, 37-77.