

2015—2016 年天津市对虾 传染性皮下及造血组织坏死病毒感染调查

邓 威, 许 杰, 刘 群, 韩进刚, 李 军, 刘 健, 杨 凯, 张 丽
(天津市水生动物疫病预防控制中心, 天津 300221)

摘 要:为了解天津市对虾养殖病害情况, 2015—2016 年从天津市的汉沽区、大港区、宁河区、静海区、津南区、西青区等对虾养殖主产区, 采集养殖对虾及饵料生物等样品, 应用 PCR 法进行对虾传染性皮下及造血组织坏死病毒 (IHHNV) 检测。2015 年共检测样品 186 份, IHHNV 阳性率为 16.13%; 2016 年检测样品 340 份, IHHNV 阳性率为 11.76%。在凡纳滨对虾的仔虾、幼虾、中成虾中均可检出 IHHNV, 2015 年的阳性率分别为 10.88%、27.27%、37.50%, 2016 年分别是 4.63%、22.00%、28.30%, 呈下降趋势。中成虾养殖阶段的 IHHNV 阳性率最高, 仔虾阶段的最低。本研究对天津市对虾 IHHNV 综合防控措施的制定提供了参考。

关键词:对虾; 传染性皮下及造血组织坏死病毒; 感染; 天津

中图分类号: S851.34 文献标识码: B 文章编号: 1005-944X (2017) 09-0023-04

DOI: 10.3969/j.issn.1005-944X.2017.09.007

Investigation on *Penaeus* IHHNV Infection in Tianjin City from 2015 to 2016

Deng Wei, Xu Jie, Liu Qun, Han Jingang, Li Jun, Liu Jian, Yang Kai, Zhang Li
(Tianjin Aquatic Animal Disease Prevention and Control Center, Tianjin 300221)

Abstract: In order to understand the disease situation of the *Penaeus* cultivation in Tianjin City, shrimp samples and food organism were collected from 2015 to 2016 from the main culture zones, such as Hangu District, Dagang District, Ninghe District, Jinghai District, Jinnan District and Xiqing District. By polymerase chain reaction (PCR), the detection of IHHNV among samples were carried out. 186 sample were detected in 2015, and the IHHNV positive rate was 16.13%. The IHHNV positive rate in 2016 was 11.76% among 340 samples. The IHHNV positive rates of post larvae, juvenile and adult shrimp in 2015 in turn were 10.88%, 27.27% and 37.5%, respectively. And the rates in 2016 in turn were 4.63%, 22% and 28.3%, respectively, showing a downward trend. The highest positive rate was in adult shrimp stage, and the lowest positive rate was in post larvae stage. This study was aimed to provide reference for prevention and control of IHHNV in Tianjin city.

Key words: *Penaeus*; IHHNV; infection; Tianjin

传染性皮下及造血组织坏死病毒 (Infectious hypodermal & haematopoietic necrosis virus, IHHNV) 能够感染多种对虾, 对幼虾危害尤其明显, 可使对虾生长缓慢, 严重影响对虾养殖业发展, 是世界各地养殖对虾常见病原之一。1981 年该病毒首次在美国夏威夷地区养殖的细角滨对虾

(*Litopenaeus stylirostris*) 中被发现^[1]; 1983 年 Lightner 等^[2]调查发现 IHHNV 在亚洲和太平洋地区养殖对虾中广泛存在。世界动物卫生组织 (OIE) 将该病列为须通报的甲壳类重要疫病之一。

IHHNV 隶属于细小病毒科 (*Parvoviridae*) 浓核症病毒亚科 (*Densovirinae*) 短浓核症病毒属 (*Brevi densovirus*), 病毒粒子直径为 22 nm, 无囊膜二十面体, 线性单链 DNA 病毒, 长度为 4.1 kb, 是已知最小的对虾病毒^[3]。其核衣壳蛋白至少

基金项目: 天津市农业科技成果转化项目 (201502070); 天津市科技计划项目 (15ZXBFNC00280)

通信作者: 许杰

由4个分子量分别为74、47、39、37.5 kDa的多肽组成。

IHHNV在全球凡纳滨对虾中流行较广。我国广西、广东、江苏、上海、山东、天津等沿海地区均有关于凡纳滨对虾IHHNV流行的报道^[4]。IHHNV感染一般不引起大面积养殖对虾的死亡，而是呈现慢性感染症状，即慢性矮小残缺综合征(Runt-deformity syndrome, RDS)，导致感染虾生长迟缓，触角、额剑、头胸部及腹部甲壳等位置出现不同程度的病变。患病幼虾表现为额剑和触角弯曲、变形，甲壳粗糙无光泽或缺等。病毒主要感染外胚层组织，如鳃、表皮、前后肠上皮细胞、神经索和神经节，以及中胚层器官，如造血组织、触角腺、性腺、淋巴器官、结缔组织和横纹肌，在宿主细胞核内可形成包涵体^[1]。在出现IHHNV慢性感染的养殖池中，30%以上的对虾生长滞缓，饲料回报率大幅降低，造成的经济损失较大。

针对近年来天津市养殖对虾出现生长缓慢的现象，2015—2016年对该地区养殖对虾IHHNV感染情况进行调查，分析病原在种苗生产与对虾养殖中的流行情况及趋势，为该病防控提控参考。

1 材料和方法

1.1 采样

2015—2016年根据不同养殖季节，从天津市汉沽区、大港区、宁河区、静海区、津南区、西青区等对虾养殖主产区的大、中、小型养殖场及苗种场，采集凡纳滨对虾的亲虾、仔虾、幼虾、中成虾，以及中国对虾、南非金刚虾，部分饵料生物（卤虫、轮虫、沙蚕、贝类、鱿鱼）等样品。具体采样方法依据《水生动物产地检疫采样技术规范》(SC/T7103—2008)的相关规定。

1.2 方法

实验室检验采用《对虾传染性皮下及造血组织坏死病毒(IHHNV)检测PCR法》(GB/T25878—2010)中的聚合酶链式反应检测方法。依据标准进行样品处理、DNA提取、PCR扩增、PCR产物电泳、结果判定。将阳性样品PCR产物，送金唯智生物科技(北京)有限公司测序；将测序

结果在NCBI Genbank中进行BLAST比对、验证。

2 结果

2.1 总体检测结果

2015—2016年从天津市对虾主产区共采集养殖对虾及有关样品526份，进行IHHNV PCR检测和测序验证。其中，2015年共检测样品186份，检出IHHNV阳性30份，阳性率为16.13%（表1）；2016年检测样品340份，检出IHHNV阳性40份，阳性率为11.76%（表2）。

表1 2015年天津市养殖对虾有关样品的IHHNV检测结果

样品名称	样品数(份)	种类	各规格样品数(份)	各规格阳性数(份)	阳性检出率(%)	总阳性数(份)	总阳性检出率(%)
凡纳滨对虾	180	亲虾	6	0	0.00	25	13.89
		仔虾	147	16	10.88		
		幼虾	11	3	27.27		
		中成虾	16	6	37.50		
饵料生物	6	卤虫	2	2	100.00	5	83.33
		轮虫	1	1	100.00		
		沙蚕	1	1	100.00		
		贝类	1	1	100.00		
		鱿鱼	1	0	0.00		

注：仔虾体长小于3.0 cm，幼虾体长3.0~7.0 cm，中成虾体长7.0 cm以上

表2 2016年天津市养殖对虾样品的IHHNV检测结果

样品名称	样品数(份)	种类	各规格样品数(份)	各规格阳性数(份)	各规格阳性检出率(%)	总阳性数(份)	总阳性检出率(%)
凡纳滨对虾	323	亲虾	4	2	50.00	38	11.76
		仔虾	216	10	4.63		
		幼虾	50	11	22.00		
		中成虾	53	15	28.30		
中国对虾	14	仔虾	14	0	0.00	0	0.00
南非金刚虾	3	仔虾	3	2	66.67	2	66.67

注：仔虾体长小于3.0 cm，幼虾体长3.0~7.0 cm，中成虾体长7.0 cm以上

2.2 各分类样品检测结果

2015年在养殖凡纳滨对虾亲虾样品中未检出IHHNV，2016年在4份样品中检出2份阳性，检出率有上升趋势。2015—2016年在养殖凡纳滨对虾、南非金刚虾中均不同程度地检出IHHNV阳性，而在中国对虾中未检出IHHNV。2015—2016年在凡纳滨对虾的仔虾、幼虾、中成虾等阶段均检出IHHNV，其中2015年的阳性率分别是10.88%、27.27%、37.50%（表1），2016年分别是4.63%、22.00%、28.30%（表2）。凡纳滨对虾中成虾阶段的IHHNV平均阳性率最高，在30%左右，但各

相应养殖阶段的阳性率总体呈下降趋势。南非金刚虾仔虾阶段的 IHHNV 检出率较高。2015 年在卤虫、轮虫、沙蚕、贝类等对虾饵料生物中均检出 IHHNV 阳性, 检出率为 83.33% (表 1)。

3 分析与讨论

3.1 IHHNV 流行特点

感染 IHHNV 后存活下来的对虾可终生携带病毒, 并可将病毒通过受精卵垂直传播给下一代^[5]。通过对亲体进行严格检疫, 可以切断病毒垂直传染的途径, 从而有效控制该病的垂直传播, 降低仔虾阶段的 IHHNV 感染率。

IHHNV 也可通过水平传播方式传播给其他个体^[5]。杨冰等^[6]检测卤虫、轮虫、桡足类、沙蚕以及绒螯近方蟹等对虾养殖饵料和环境生物, 其中在绒螯近方蟹中检出了 IHHNV。白丽蓉等^[7]研究认为, 由于 IHHNV 宿主非常广泛, 虾、蟹等甲壳动物及卤虫、轮虫、桡足类等对虾饵料生物均可感染, 致使凡纳滨对虾极易通过其他水生生物感染 IHHNV。本研究发现卤虫、轮虫、沙蚕、贝类等对虾饵料生物可携带 IHHNV, 也证实了 IHHNV 宿主广泛。因此, 一些在虾苗阶段未感染 IHHNV 的个体, 通过水平传播, 可以在幼虾、中成虾阶段感染患病。

袁颜颜等^[8]对 2011—2012 年的对虾样品进行 IHHNV 检测, 发现凡纳滨对虾、斑节对虾、中国对虾、宽沟对虾呈阳性, 而脊尾对虾为阴性。范东东等^[9]在我国华东、华南等罗氏沼虾主要养殖区检测 IHHNV, 发现阳性率为 90%; 成年罗氏沼虾可携带病毒, 不表现明显症状。本研究发现凡纳滨对虾、南非金刚虾可感染 IHHNV, 而在中国对虾中未检出。随着对虾亲虾及苗种的大量引进及疾病的入侵, 对虾种群及其产品中携带的 IHHNV 将对我国现有对虾品种及其饵料环境生物造成潜在威胁。

3.2 对虾不同养殖阶段的 IHHNV 感染特点和流行趋势

本研究发现 2015—2016 年天津市养殖凡纳滨对虾中成虾阶段的 IHHNV 阳性率高于幼虾和仔虾阶段。其中, 仔虾阶段的阳性率最低, 原因

为: 在育苗场选育工程中, 凡纳滨对虾选育体系对 IHHNV 的抗性不断增强^[5]; 培育无特定病原 (SPF) 虾苗或抗特定病毒病原 (SPR) 虾苗或种虾, 重视亲虾的疫病检疫, 使用不带病毒的健康亲虾进行繁育, 切断了病毒的垂直传播; 对虾养殖场采取跟踪监测、隔离标苗棚等一系列措施, 有效降低了仔虾养殖阶段病毒病的发生。

幼虾、中成虾阶段阳性率偏高的原因: (1) 一般对虾达到 4.5 cm 左右进入“转肝期”^[10]。该时间段, 其肝脏、胰脏尚未成熟, 自身防御能力不高, 容易感染疾病。在对虾大量蜕壳阶段, 由于免疫力低, 会激发低水平感染 IHHNV 的对虾表现症状, 使病毒由携带者传播给其他健康对虾。(2) 凡纳滨对虾对环境变化非常敏感。气候变化与养殖环境改变为凡纳滨对虾病毒病的发生创造了条件^[11]。天津市夏季高温阴雨, 养殖水体低溶氧、高水温、高氨氮, 使得虾苗易感染该病毒。(3) 陈禄芝等^[12]研究发现, 在未经处理的海水样品可检测到 IHHNV, 而经砂滤、臭氧消毒、精密过滤、紫外消毒等一系列处理过的水体中检测不出 IHHNV, 可见水体的消毒处理可以预防 IHHNV 感染。未经彻底消毒的水体和鲜活饵料中存活的少量病毒可通过水平传播感染健康虾。

胡文娟等^[13]调查发现, 上海市淡水养殖对虾的 IHHNV 和对虾白斑综合症病毒 (WSSV) 共感染现象较普遍。2 种病毒的共感染可使病毒致病性叠加和免疫抑制时间的延长, 因此共感染导致的损失可能比单病毒感染更大。因此, 随着 IHHNV 的流行, 养殖对虾病毒病的多发和多种病毒病的并发, 使得养殖对虾的疫病形势更加复杂, 产生的危害更大, 需引起养殖单位的高度警惕。

4 小结

2015—2016 年天津市对虾养殖主产区已普遍存在 IHHNV 感染, 但感染率总体呈下降趋势。通过严格控制亲虾品质及引进无病毒感染苗种, 放养优质健康虾苗, 对水源及人工配合饲料进行消毒处理, 可有效切断病原传播途径。采用简单易行、

(下转第 101 页)

(上接第 25 页)

灵敏准确的 IHHNV 检测方法, 实时监测, 可对 IHHNV 进行早期预防控制, 从而有效防止养殖过程中的病原侵入。

参考文献:

[1] KALAGAYAN H, GODIN D, KANNA R, et al. IHHN virus as an etiological factor in runt- deformity syndrome(RDS) of juvenile *Penaeus vannamei* cultured in Hawaii[J]. J World Aquacul Soc, 1991, 22 (4): 235-243.

[2] LIGHTNER D V, REDMAN R M, BELL T A, et al. Detection of IHHN virus in *Penaeus stylirostris* and *vannamei* imported into Hawaii[J]. J world aquaculture society, 1983, 14 (1/2/3/4): 212-225.

[3] BONAMI J R, TRUMPER B, MARI J, et al. Purification and characterization of the infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus of penaeid shrimps[J]. J Gen Virol, 1990, 71 (11): 2657-2664.

[4] 童桂香, 韦信贤, 吴伟军, 等. 广西凡纳滨对虾 IHHNV 感染情况的调查与分析[J]. 南方农业学报, 2013, 44 (13): 2089-2093.

[5] 郝崇波. 美洲地区对虾 TSV、IHHNV、WSSV 和 YHV 病毒的流行现状、诊断方法及防治对策[J]. 中国水产, 2001 (6): 59-61.

[6] 杨冰, 宋晓玲, 黄健, 等. 对虾传染性皮下及造血组织坏死病毒 (IHHNV) 的流行病学与检测技术研究进展[J]. 中国水产科学, 2005, 12 (4): 519-523.

[7] 白丽蓉, 赵志英. 对虾传染性皮下及造血组织坏死病毒 (IHHNV) 的研究进展[J]. 中国农学通报, 2012, 28 (14): 114-119.

[8] 袁颜颜, 杨冰, 万晓媛, 等. 采用 OIE 标准检测养殖对虾中传染性皮下及造血组织坏死病毒 (IHHNV) 的 PCR 检出类型[J]. 渔业科学进展, 2015, 36 (1): 67-73.

[9] 范东东, 魏永伟, 苗亮, 等. 罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 传染性皮下和造血器官坏死病毒 (IHHNV) 的流行病学调查[J]. 海洋与湖沼, 2015, 46 (5): 1153-1159.

[10] 李晶雨. 关于对虾肝胰脏问题的剖析[J]. 水产前沿, 2016 (9): 82-83.

[11] 文国樑, 李卓佳, 张家松, 等. 凡纳滨对虾病毒防控技术[J]. 广东农业科学, 2011, 18: 112-115.

[12] 陈禄芝, 余霞艳, 胡一丞, 等. 粤西地区凡纳滨对虾肝肠胞虫、传染性皮下和造血组织坏死病毒感染情况的初步调查[J]. 渔业研究, 2016, 38 (4): 273-280.

[13] 胡文娟, 房文红, 江敏, 等. 淡水养殖凡纳滨对虾 IHHNV-WSSV 共感染率调查分析及其对免疫相关酶活性的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2015, 24 (5): 685-693.

(责任编辑: 朱迪国)