

白斑综合症病毒的生物学特性^{*}

BIOLOGICAL CHARACTERS OF WHITE SPOT SYNDROME VIRUS (WSSV)

雷质文¹ 黄 捷² 梁成珠¹ 俞开康³ 战文斌³(¹ 青岛出入境检验检疫局 266002)(² 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071)(³ 青岛海洋大学水产学院 2666003)

白斑综合症病毒(WSSV)是第一个测得基因组序列的海洋生物病毒,也是迄今已知的最大动物病毒^[1]。该病毒遍及亚洲主要对虾养殖国家和地区,并已传播到中美洲和南美洲,给对虾养殖造成了巨大的损失。自1993年以来随着病毒学的发展以及现代分子生物学技术在对虾病毒研究领域的广泛应用,国内外学者对白斑综合症病毒的研究和认识也愈来愈深入,取得了一些突破性的进展。根据近10 a的文献资料,本文对白斑综合症病毒(WSSV)的生物学特性进行综述,以期为进一步开展白斑综合症病毒(WSSV)的研究提供参考。

1 白斑综合症病毒(WSSV)的命名和分类地位

自1993年以来,不同研究者根据所分离病毒株的地域分布、原始宿主、形态发生以及主要病理症状,给不同分离株不同的命名:黄捷等1995年的报道将其命名为皮下与造血组织坏死病毒(HHNBV),Inouye等1996年的报道将其命名为日本对虾棒状细胞核病毒(RVPJ=PVPD),Wongteerasupa等1995年的报道将其命名为系统性外胚层和中胚层杆状病毒(SEMBV=PmNb III),Wang等1995年的报道将其命名为白斑杆状病毒(WSBV)。在国内,战文斌等1995年的报道将其命名为中国对虾杆状病毒(PCBV),陈细法等将所分离的毒株命名为淋巴样细胞核型杆状病毒(LNBV)^[2],徐洪涛等将其命名为中国对虾非包涵体型杆状病毒(PcNOBV)^[3]等等。

据Wongteerasupa等1996年的报道,使用由PmNb II DNA片段制备的地高辛标记DNA探针(0.9

kb, 4.2 kb)检测了中国对虾(来自中国大陆)、印度对虾(来自印度)、日本对虾(来自泰国)、墨吉对虾(来自印度尼西亚)、斑节对虾(来自泰国、印度、印度尼西亚)、南美白对虾(来自泰国)的带毒状况,发现所有不同地域不同宿主均呈阳性反应,说明上述病毒株核酸序列之间有同源性。Nadala等运用电泳、十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳和限制性片段长度多态性分析(RFLP)方法比较研究了从斑节对虾(来自印度尼西亚)、日本对虾(来自中国大陆)以及白对虾(来自美国)分离的病毒株,实验结果表明:三分离株病毒粒的大小、形态十分相似;蛋白质电泳带至少有3条相同;用EcoRI消化三病毒株DNA,均有36条DNA电泳带,它们之间没有区别。Lo等用RAPD技术比较研究了从中国对虾(中国1996-116A)、斑节对虾(印度95-314,食品店96-115)、淡水小龙虾(*Orconectes punctinatus*) (美国国家动物园97-25)、南美白对虾(泰国95-46,美国南卡罗来纳97-64)分离的WSSV DNA,发现PCR产物只有少许差别^[23]。根据以上研究结果,结合染毒对虾在临床症状、病理特征、流行特征上的相似性,可以看出不同地域不同宿主的病毒分离株的基因组序列有很大的同源性。这样看来,暂时赋予不同分离株统一命名是完全可以的。Lightner等在1996年的著作中建议

* 国家“九五”攻关项目“对虾病毒生态发病原因及检测技术研究”。

第一作者:雷质文,出生于1969年,硕士,兽医师,青岛出入境检验检疫局食品实验室。青岛市瞿塘峡路70号,266002。

收稿日期:2000-11-07;修回日期:2001-08-08

将这类杆状病毒暂统一命名为白斑综合症病毒 (WSSV)。

Lo 等将克隆的白斑综合症病毒 (WSSV) 基因组 (约占病毒全基因组 15%) 序列与基因库或其他数据库已有序列相比较,发现与已知的任何病毒序列没有同源性,可以认为白斑综合症病毒如果不属于一个新的病毒群体的话,至少是一种新病毒^[24]。中美科学家将白斑综合症病毒核酸全序列与已知的 A 型杆状病毒基因相比较,发现没有同源性,而与多种管状真核生物蛋白质的 DNA 序列有部分同源^[1]。由此看来,白斑综合症病毒 (WSSV) 为一种新的病毒。据 Fracki 等 1991 年的报道,1991 年国际分类委员会 (ICTV) 第 5 次报告将 WSSV 归为杆状病毒科 (*Baculoviridae*) 无包涵体杆状病毒属 (*Non-occluded Baculoviruses*)。1995 年第 6 次 ICTV 报告中杆状病毒科取消了亚科分类阶元,其时也没有建立新的分类阶元,杆状病毒科只包括核型多角体病毒属 (*Nucleopolyhedroviruses*) 和颗粒病毒属 (*Granuloviruses*)^[41]。显然, WSSV 不属于以上两个病毒属,其分类位置待定。

2 白斑综合症病毒 (WSSV) 的大小和形态结构

据黄捷等 1995 年的报道,以烟草花叶病毒 (TMV) 为内标定物,用电镜观察从中国对虾分离的 WSSV,该分离株病毒粒子大小为 $120\text{ nm} \times 360\text{ nm}$,核衣壳大小为 $82\text{ nm} \times 304\text{ nm}$,负染后病毒粒子为 $150\text{ nm} \times 450\text{ nm}$,核衣壳大小为 $95\text{ nm} \times 450\text{ nm}$;据 Wongteerasupaya 等 1995 年的报道,对从斑节对虾 WSSV 进行电镜观察发现该分离株的病毒大小为 $119\text{ nm} \times 229\text{ nm}$,核衣壳大小为 $80\text{ nm} \times 244\text{ nm}$,负染后病毒粒子大小为 $121\text{ nm} \times 276\text{ nm}$,核衣壳大小为 $73\text{ nm} \times 302\text{ nm}$;据 Lo 等 1995 年的报道,对从斑节对虾分离的 WSSV 进行电镜观察,发现该分离株的病毒大小为 $87\text{ nm} \times 330\text{ nm}$,核衣壳大小为 $70\text{ nm} \times 220\text{ nm}$;据 Inouye 等 1996 年的报道,对从日本对虾分离的 WSSV 进行电镜观察,发现该分离株病毒粒子大小为 $130\text{ nm} \times ?\text{ nm}$,核衣壳大小为 $84\text{ nm} \times 226\text{ nm}$;负染后病毒粒子大小为 $152\text{ nm} \times 404\text{ nm}$,核衣壳大小为 $86\text{ nm} \times 363\text{ nm}$ 。由此看来,不同研究者所分离病毒株的病毒粒子和核衣壳大小不同,而且不同研究者对相同地域相同宿主中分离 WSSV 进行电镜观察,其结果差别很大,而且不同研究者对来源不同宿主各异的 WSSV 分离株,在相同

实验条件下进行电镜观察,其结果并不一致。Kasornchandra 等对来自 6 个亚洲国家所养殖的斑节对虾、中国对虾、印度对虾、墨吉对虾、日本对虾的 WSSV 分离株进行电镜观察,发现各分离株的病毒粒子大小和核衣壳大小均不同^[22],而 Nadala 等对 WSSV 中国株、WSSV 印度尼西亚株、WSSV 美国南卡纳株进行电镜观察,发现其形态和大小相同^[23];Wang Q. 等 1999 年对 WSSV 中国株、WSSV 印度株、WSSV 泰国株、WSSV 美国德克萨斯株、WSSV 美国南卡纳株以及 WSSV 美国国家动物园株进行观察,发现 6 株 WSSV 的病毒粒子大小为 $320\text{ nm} \times 120\text{ nm}$,核衣壳大小为 $350\text{ nm} \times 80\text{ nm}$ 。

不同研究者发现不同地域不同宿主的 WSSV 的形态结构十分相似。据黄捷等 1995 年、Inouye 等 1996 年、Wongteerasupaya 等 1995 年、Wang 等 1995 年的报道,完整的病毒粒子横切面为圆形,纵切面为杆状而略带椭圆,粒子外被囊膜,囊膜为双层结构,囊膜内可见杆状的核衣壳和核衣壳内致密的髓核;病毒的衣壳结构为螺旋圆柱体形,大小约为 $95\text{ nm} \times 450\text{ nm}$,螺旋带几乎与衣壳长轴垂直,螺距为 30 nm ,每匝螺旋宽 26 nm ,螺旋间距 4 nm ,该衣壳螺旋由两条平行的约 9 nm 宽的螺旋和一条宽约 8 nm 的中间带组成;每个子粒由两个边缘颗粒和一个中间颗粒组成,呈“<”形结构,子粒排列周期为 14 nm 。

3 白斑综合症病毒 (WSSV) 的化学组成和理化特性

白斑综合症病毒 (WSSV) 主要是由蛋白质和核酸 (DNA) 组成。Wang Q. 等对 6 株 WSSV 的蛋白质电泳带进行电印迹时,发现有一条 19 kDa 的多肽,其转移效率很低;根据糖蛋白往往不易转移出 SDS-PAGE 胶这种现象,Wang Q. 等 1999 年便推测此条多肽可能是糖蛋白,但 WSSV 是否有糖类 (糖蛋白) 和脂类有待进一步研究证实。

据黄捷等 1995 年的报道,从中国对虾分离的 WSSV,经乙醚和 $56\text{ }^{\circ}\text{C}$ 处理 30 min 失活;不易通过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 的滤膜。Mieda 等报道, $1 \times 10^{-6}\text{ NaClO}$ 处理从日本对虾分离的 WSSV 30 min 失活; $5 \times 10^{-6}\text{ NaClO}$ 处理 WSSV 日本株 10 min 失活; $10 \times 10^{-6}\text{ NaClO}$ 处理从斑节对虾分离的 WSSV 泰国株 30 min 失活; 10×10^{-6} 有机碘处理 WSSV 日本株和 WSSV 泰国株 30 min 失活。 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下 $12.5\%\text{ NaCl}$ 溶液处理 WSSV 日本

株 24 h 失活; 28 ℃下 15 % NaCl 溶液处理 WSSV 泰国株 24 h 失活; 50 ℃处理 WSSV 日本株 20 min 失活; WSSV 日本株 30 ℃干燥以及乙醚处理会失活; 4 ℃海水中 WSSV 日本株会存活至少 120 d, 25 ℃海水中 WSSV 日本株会存活 60 ~ 120 d; 4 ℃低盐度海水中 WSSV 日本株只能存活 10 d, 25 ℃时能存活 7 d; 28 ℃海水中 WSSV 泰国株能存活 5 d; WSSV 日本株在水中有游离 O_2 存在时, 其感染活性降低。张朴性等报道^[5], WSSV 经 UV 剂量为 9×10^5 ($\mu W \cdot s$) / cm^2 照射 60 min 完全失活; WSSV 经 55 ℃和 70 ℃分别处理 90 min 和 5 min 会完全失活; WSSV 在 pH 1 和 pH 12 环境中 10 min 失活; WSSV 经臭氧(有效浓度为 0.5 $\mu g/ml$) 处理 10 min, 其感染力降至零; WSSV 经 100 g/L NaClO 和有机碘以及 75 g/L 四级胺处理 10 min 会失活。何建国等从斑节对虾分离的 WSSV, 在盐度为 14, 温度为 28 ~ 32 ℃的海水中, 4 h 便失去活性; 体长 7 cm 的死亡斑节对虾 28 ℃空气干燥, 其携带 WSSV 在 50 h 失去活性^[6]。由此看来, 射线、化学试剂、酸碱度(pH)、温度、盐度、湿度和水中的游离氧(O_2 和 O_3) 对 WSSV 的感染活性有影响, 并且不同 WSSV 分离株对不同外界因素影响的敏感性不同。

4 白斑综合症病毒(WSSV)的基因组及其编码的多肽

据黄捷等 1995 年的报道, 通过核酸变性处理, 变性后的 OD_{260} 值比变性前的 OD_{260} 值升高了 30.6 %, 说明 WSSV 的核酸 DNA 是双链结构。中美科学家合作完成了白斑综合症病毒(WSSV)基因测序, 测得的数据准确率达到 99.9 %, WSSV 的基因组大小为 305 108 bp^[1]。

据黄捷等 1995 年的报道, 对从中国对虾分离的 WSSV 中国的结构蛋白进行研究, 发现完整的 WSSV 中国株有 12 条主要多肽, 此外还有 11 条很弱的区带; 核衣壳有两条主要多肽, 此外还有两条很弱的区带。比较上述区带, 推断分子量为 23.4 kDa 以及 19 kDa 的多肽是病毒核衣壳的结构蛋白, 而其他多肽可能是病毒囊膜的结构蛋白。Nadala 等比较了 WSSV 中国株、WSSV 印度尼西亚株、WSSV 美国南卡来纳株的结构蛋白, 发现此 3 株不同地域的 WSSV 均有 3 条多肽(19 kDa, 23.5 kDa, 27.5 kDa), 并由此推断此 3 株 WSSV 可能具有相似的抗原决定簇。Wang Q. 等对 WSSV 中国株、WSSV 美国南卡来纳株、WSSV 泰国

株、WSSV 印度株、WSSV 美国德克萨斯株、WSSV 美国国家动物园株的结构蛋白进行比较研究, 发现前 5 株 WSSV 均有 3 条主要多肽(19 kDa, 23 kDa 和 25 kDa), 而从淡水小龙虾分离的 WSSV 的结构蛋白中, 23 kDa 和 25 kDa 这两条多肽很弱, 但是分子量为 19 kDa 的多肽比前 5 株 WSSV 的 19 kDa 多肽要粗大得多; WSSV 中国株、WSSV 泰国株、WSSV 美国南卡来纳株和 WSSV 美国动物园株都有一条 14.5 kDa 的多肽, 而 WSSV 印度株和 WSSV 美德克萨株缺少这条多肽。不同地域的 WSSV 分离株的主要结构蛋白电泳带不近相同, 一方面说明了不同地域 WSSV 的基因组序列有些差异, 另一方面可为蛋白质变异提供一些证据。Wang Q. 还研究了 WSSV 美国南卡来纳的 4 条主要多肽(14.5 kDa, 19 kDa, 23 kDa 和 25 kDa) 的氨基酸组成, 多肽 14.5 kDa, 23 kDa 和 25 kDa 的 NH_2 末端的氨基酸分别为 VARGGKTKGRRG、MEFGNLTNLDVA 和 MDLSFTLSVVTA, 并且上述 3 种多肽 NH_2 末端的某些氨基酸并不是确定不变的, 如 14.5 kDa 多肽 1 号位置的是 V 或 S, 23 kDa 多肽的 1 位置是 M 或 P, 25 kDa 多肽的 11 号位置是 T 或其他氨基酸。不同分离株病毒之间共有多肽的一级结构是否相同或相似? 不同分离株病毒的结构蛋白的结构存在多大的同源性? 目前还不清楚。

陈如为报道^[1], WSSV 的基因组序列与多种管轄真核生物的蛋白质的基因序列有部分同源。Wang Q. 等对 WSSV 3 个基因片的 CR44(2.8kb)、QW237(6.0kb) 以及 QW245(2.2kb) 进行了克隆测序, 并假设此 3 个基因片段为开放阅读框, 将其与基因库中的已知序列进行比较分析, 找出了上述 3 个基因片段的功能区, 然而这方面的研究仅仅是在假设的条件下进行的, 是否属实尚待进一步研究论证。WSSV 基因如何表达其结构蛋白? 在结构蛋白中哪些多肽是抗原决定簇? 哪些多肽与对虾细胞膜受体结构结合? 是单价位点还是多价位点结合? 对虾细胞膜上相应受体的化学组成和空间构象怎样? 等等。这些问题一旦被攻克, 将彻底揭开 WSSV 的感染途径和发病机理, 并为预防和治疗 WSSV 引起的虾病奠定分子及细胞生物学基础。

5 白斑综合症病毒(WSSV)的致病机理

据 Chang 等 1996 的报道, 用患病斑节对虾组织投喂 0.35 ~ 0.45 g 的斑节对虾, 16 h 其胃上皮、鳃、甲

壳下表皮和肝胰腺上皮中有病毒 DNA。Chang 等用患病及斑节对虾组织投喂鹰爪虾、刀额新对虾、东方对虾、淡水沼虾 (*Macrobrachium* sp.), 蟹类 (*Portunus sanguinolentus*, *Chargadis granulata*), 龙虾 (*Panulirus setiferus*), 原位杂交技术检测各宿主内的 WSSV DNA, 发现鹰爪虾、刀额新对虾、东方对虾的由内胚层和中胚层分化而来的组织均可被 WSSV 感染, 而即使严重感染的龙虾、蟹类和沼虾, 只有鳃被感染^[20]。Chou 等用投喂和浸泡方法感染对虾, 均可使之患病死亡^[21]。战文斌等用患病对虾组织感染日本对虾稚虾, 运用单克隆抗体方法, 原位观察 WSSV 在虾体内的感染增殖, 感染后 3 d 内各组织均未观察到明显的阳性细胞, 第 4 天首先在鳃丝腔内的少量血细胞观察到病毒感染, 第 5 天除血细胞外同时在血窦、鳃上皮组织、皮下组织观察到, 第 6 天在心脏、胃上皮组织内观察到^[7]。根据以上的研究结果, 可以推断: 在对虾养殖池内 WSSV 经口感染和浸泡感染同时存在; WSSV 对上皮组织和造血组织有较强的嗜性。

WSSV 从外界环境进入虾体, 如何破坏对虾的第一道物理屏障尚不清楚。昆虫杆状病毒科颗粒体病毒属病毒都有一种病毒增效蛋白, 此种蛋白以两种模式起增效作用, 第一种是发挥其金属蛋白酶活性, 降解昆虫中肠的围食膜, 破坏中肠的物理屏障, 使病毒更容易进入细胞, 增加病毒的相对感染量; 另一种是直接作用于质膜与病毒粒子增效蛋白的作用位点, 促进病毒粒子与质膜的融合^[8]。白斑综合症病毒 (WSSV) 隶属杆状病毒科, 其可经口感染和浸泡感染健康对虾, 对上皮组织的上皮细胞和血细胞有较强的组织嗜性, 所以可以推测 WSSV 的囊膜中可能有增效蛋白或类增效蛋白存在。

WSSV 突破对虾的第一道防线, 进入对虾体内, 不一定生病, 关键是病毒在细胞内生存及扩增的条件。一般认为, 病毒内化是病毒感染入侵的重要模式, 病毒内化首先由胞内体 (主要指内膜系统) 分检, 再由溶酶体分解, 这些细胞器均在酸性环境下正常工作^[9]。病毒内化后逃离被降解可能与细胞器的不正常生理状态或病毒本身的特性有关。据黄灿华等的报道^[10], 患病中国对虾的细胞内线粒体坏死, 数目减少; 内质网增生, 呈指环样结构; 溶酶体数目增多, 并且溶酶体内亦有 WSSV 粒子。胡家露等认为影响胞内体溶酶体的主要化学因素有非质子的 $R-NH_2$ 和质子化的 $R-NH_3^+$ 。对虾体内蛋白质代谢产物主要以氨的形态出

现, 因此可能由于氨代谢的障碍为病毒进入细胞并存活提供了条件^[11]。吴垠等对患病中国对虾的血液生理生化指标检测, 发现染毒中国对虾的血清总蛋白、白蛋白、血糖含量减少, 而甘油三酯、尿素氮、肌酐含量增加, 血清碱性的磷酸酶 (AKP)、谷氨转氨酶 (GPT)、乳酸脱氢酶 (LDH) 活性增加^[12]。黄灿华等运用聚丙烯酰胺凝胶电泳研究染毒中国对虾体内同工酶的表型变化, 发现患病中国对虾体内酯酶 (EST)、苹果酸脱氢酶 (MDH)、谷草转氨酶 (GOT) 相关的同工酶带丢失, 酶活性下降; 超氧化物歧化酶 (SOD) 的活性下降, 染毒中国对虾免疫防御机能明显衰退^[13]。这些结果反映了患病虾体内糖类、脂类、氨基酸等物质代谢紊乱, 为病毒存活提供了条件。另一方面, WSSV 在细胞内存活, 有时仅仅处于潜伏状态, WSSV 携带者的行为和体表特征均正常。在一定的环境因素胁迫下, 处于潜伏的 WSSV 就会被“激活”而迅速增殖, 并随血液循环感染其他组织器官的细胞, 从而引起周身感染。总之, WSSV 引起的对虾致病是内外环境共同作用的结果。

6 白斑综合症病毒 (WSSV) 的宿主和传播途径

6.1 白斑综合症病毒 (WSSV) 的宿主

据黄捷等 1995 年的报道, 用单克隆抗体在桡足类、海葵、糠虾、白虾、毛虾等动物中检测出 WSSV。据吴友吕等 1995 年的报道, 用电镜在脊尾白虾、长毛对虾体内发现 WSSV。据严隽箕 1995 年的报道, 用电镜在病虾塘死亡螃蟹 (*Chasmodon gnathus* sp.) 体内发现 WSSV。Lighter 在其著作中指出, 南美白对虾、斑节对虾、日本对虾、墨吉对虾、长毛对虾、中国对虾、印度对虾、桃红对虾、蓝对虾、白对虾、褐对虾等养殖对虾皆可被 WSSV 侵染^[7]。据 Lo 等 1996 年的报道, 用 PCR 方法在虾塘的螃蟹 (*Helice tridens*)、桡足类和昆虫 (*Ephydra*) 体内检测出了 WSSV。孙伯伦等在病虾塘死亡天津厚蟹体内观察到 WSSV^[14]。Richman 等用病理组织电镜方法在美国国家动物园养殖的淡水小龙虾体内发现 WSSV。魏静等对克氏原螯虾进行注射感染, 然后用核酸探针斑点杂交、组织病理以及电镜技术进行检测, 发现 WSSV 可在克氏原螯虾体内增殖, 且染毒克氏原螯虾于自然发病对虾的组织病理学相似^[15]。何建国等利用 PCR、组织病理和电镜技术, 证明长毛对虾、周氏新对虾、东方白虾、日本樱虾、近缘

新对虾、长臂虾、刀额新对虾、虾蛄、桡足类、测足厚蟹、褶痕相手蟹、疣状长方蟹、乳斑虎头蟹、武氏厚蟹、带纹相手蟹、双齿相手蟹、巨缘青蟹等均可被 WSSV 感染^[16]。由上可以看出,海水中的虾类、蟹类等甲壳动物以及少数淡水虾类皆可被 WSSV 侵染,其中虾类最易被 WSSV 感染。

6.2 白斑综合症病毒(WSSV)的传播途径

6.2.1 水平传播 根据白斑综合症病毒(WSSV)的宿主种类,可以看出 WSSV 的水平传播途径已被广泛证明。在养殖虾场, WSSV 通过食物网传播,或以海水为媒介直接进入宿主体内。另一方面,携带病毒苗种的引入,携带 WSSV 的水产经济甲壳动物的交换和贸易,对虾加工场排出的有 WSSV 的废水,以及运输设备被 WSSV 污染,也应属于 WSSV 水平传播途径。据 Nakano 等 1996 年的报道,1993 年日本对虾大量死亡的原因是从中国福建引入大批带毒日本对虾苗种引起的。在亲虾和苗种方面美国与亚洲之间交往不频繁,并且美国对活体生物进口的控制较为严格, WSSV 在亚洲与美国之间的传播相对较难,然而 Richman 等发现美国的几个养虾场的养殖对虾和美国国家动物园小龙虾被 WSSV 侵染,其可能诱因如下:被 WSSV 感染斑节对虾、红额角对虾、加州对虾等进口商品虾在美国于包装和加工过程中排出了被 WSSV 污染的废物和废水,从亚洲进口发病的小对虾作鱼饵,货船外的附着生物等。

6.2.2 垂直传播 Lo 等运用 PCR 和原位杂交技术检测 WSSV 的靶器官,发现雄虾生精小管外围的结缔组织被 WSSV 侵染,在雌虾的卵巢中,滤泡细胞、卵原细胞以及初级卵母组织均被 WSSV 侵染,但在发育成熟的卵细胞中没有发现 WSSV,于是推测被侵染的初级卵母细胞在发育成熟过程中被 WSSV 杀死^[24]。包拯民等运用电镜技术检测越冬亲虾的鳃、前中肠和卵巢组织,发现卵巢内有 WSSV^[17]。江世贵等运用病理制片、电镜、PCR 以及原位杂交技术对被 WSSV 感染的斑节对虾亲虾进行检测,发现被 WSSV 感染的斑节对虾亲虾的卵巢中不仅卵母细胞感染上 WSSV,而且卵细胞也感染了病毒^[18]。然而,卵巢被 WSSV 侵染只能说明 WSSV 存在垂直传播的可能性。要论证 WSSV 是否存在垂直传播,关键之处是要使用现代生物技术来确定患病亲虾的后代,即虾卵、无节幼体、蚤状幼体以及糠虾是否带毒,但蚤状幼体和糠虾已开口

摄食,有可能经口感染,所以患病亲虾的后代虾卵和无节幼体带毒与否是论证 WSSV 是否存在垂直传播的突破口。刘萍等用二次 PCR 技术检测人工感染的亲虾以及其所繁殖的各期幼体,发现卵以及各期幼体均不携带 WSSV^[19]。Venegas 等用二次 PCR 技术对被 WSSV 粗提液浸泡无节幼体、蚤状幼体、糠虾以及五期(PL1, PL6, PL9, PL11, PL12)仔虾进行检测,发现无节幼体、蚤状幼体、糠虾以及 PL1 仔虾均不被 WSSV 侵染。然而,这些已报道的研究结果尚不足以对 WSSV 的垂直传播问题做出肯定的结论,还需做更多的研究工作。

参考文献

- 1 陈如为.中美科学家合作完成对虾白斑杆状病毒基因组测序,科学时报,1999,11月10日,第3版
- 2 徐洪涛等.1996年中国对虾暴发性流行病病毒病的病原,病毒学报,1999,15(2):158~163
- 3 徐耀先等.病毒命名与分类系统研究进展,中国病毒学,1999,14(3):191~204
- 4 张朴性等.虾类的健康养殖.北京:海洋出版社,1998.157~172
- 5 何建国等.白斑综合症杆状病毒致病性特征,热带海洋,1999,18(1):59~67
- 6 战文斌等.白斑症病毒在日本对虾体内的感染增殖,水产学报,1999,23(3):278~282
- 7 马永平等.杆状病毒增殖蛋白研究进展,中国病毒学,1999,14(3):185~188
- 8 王福安等.生物大分子的内化.北京:科学出版社,1995.17~40
- 9 胡家露等.生物大分子的内化.北京:科学出版社,1995.93~102
- 10 吴垠等.中国对虾暴发性流行病的血液病理研究,中国水产科学,1998,5(3):53~57
- 11 黄灿华等.中国对虾病虾体内同工酶表型变化的初步研究,中国水产科学,1999,6(1):45~49
- 12 魏静等.用对虾的致病病毒人工感染克氏原螯虾,南京农业大学学报,1998,21(4):78~82
- 13 何建国等.白斑综合症杆状病毒的感染途径和宿主种类,中山大学学报(自然科学版),1999,38(2):65~59
- 14 江世贵等.白斑综合症对斑节对虾亲虾的感染及垂直传播的初步研究,中山大学学报(自然科学版),2000,39:164~171
- 15 刘萍等.暴发性流行病原中国对虾亲虾人工感染及对子代影响的PCR检测,海洋与湖沼,1999,30(2):139~143

- 16 Chang Pohrshing *et al.*. Detection of WSSV in experimentally infected wild shrimp, crab and lobsters by *in situ* hybridization, *Aquaculture*, 1998, 164: 233 ~ 242
 - 17 Chou H. Y. .Studies on transmission of WSBV in *P. monodon* and *P. japonicus* via waterborne contact and oral ingestion, *Aquaculture*, 1998, 164: 263 ~ 276
 - 18 Kasornchandra J. . Detection of white-spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Asia: Microscopic observation and PCR, *Aquaculture*, 1998, 164:243 ~ 251
 - 19 Lo C.F. *et al.*. Specific genomic DNA fragment analysis of different geographical clinical samples of shrimp white spot syndrome virus, *Dis. Aquat. Org.*, 1999, 35:175 ~ 185
 - 20 Mieda M. *et al.*. Effect of various treatments on white spot syndrome virus (WSSV) from *Penaeus japonicus* (Japan) and *P. monodon* (Thailand), *Fish Pathology*, 1998, **33** (4) : 381 ~ 187
 - 21 Nadala E.B.Jr *et al.*. A comparative study of three different isolates of white spot virus, *Dis Aquat. Org.*, 1998, 33: 231 ~ 234
 - 22 Nunan L. M. *et al.*. The detection of WSSV and RHV in imported commodity shrimp, *Aquaculture*, 1998, 160: 19 ~ 30
 - 23 Peng ShaoEn *et al.*. The transition from pre-patent infection of WSSV in *Penaeus monodon* triggered by pereopod excision, *Fish Pathology*, 1998, **33**(4) : 395 ~ 400
 - 24 Venegas C. A. *et al.*. Pathogenicity of penaeid rodshaped DNA virus (PRDV) to kuruma prawn in different developmental stages, *Fish Pathology*, 1999, **34**(1) : 19 ~ 23
- 辅助参考文献
- 汝少国等。中国对虾肝胰腺上皮细胞质中杆状病毒增殖的电镜观察,青岛海洋大学学报,1996,**26**(1):127 ~ 129
- 严隽箕。虾池中病介体的研究,水产科学,1995,**14**(6) : 6 ~ 8
- 吴友吕等。脊尾白虾杆状病毒病的研究,水产科技情报,1995,**22**(1) :8 ~ 13
- 战文斌等。中国对虾杆状病毒病的研究,中国水产研究,1995,2:22 ~ 28
- 黄 捷等。杆状病毒性的皮下及造血组织坏死——对虾暴发性流行病的病原和病理学,海洋水产研究,1995a,**16**(1) :1 ~ 10
- 黄 捷等。对虾皮下及造血组织坏死杆状病毒的精细结构,核酸多肽及血清学研究。海洋水产研究,1995b, **16**(1) :11 ~ 23
- 黄 捷等。对虾暴发性流行病病原的人工感染研究,海洋水产研究,1995c,**16**(1) :51 ~ 58
- 黄 捷等。单克隆抗体酶联免疫技术检测对虾及造血组织坏死病的病原及其传播途径,海洋水产研究,1995d,**16**(1) :40 ~ 50
- Chang Pohrshing *et al.*. Identification of white spot syndrome associated baculovirus(WSBV) target organs in the shrimp *Penaeus monodon* by *in situ* hybridization, *Dis. Aquat. Org.*, 1996, 27:131 ~ 139
- Francki R.I.B. *et al.*. Classification and nomenclature of viruses, *Arch. Virol.*, 1991, Suppl, 2:1 ~ 450
- Inouye K. *et al.*. Mass mortalities of cultured kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, in Japan in 1993: Electron microscopic evidence of the causative virus, *Fish pathology*, 1994, **29**(2) : 149 ~ 158
- Inouye K. *et al.*. The penaeid rodshaped DNA virus (PRDV), which causes penaeid acute viremia (PAV), *Fish Pathology*, 1996, **31**(1) : 39 ~ 45
- Lo C.F. . Detection of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) in penaeid shrimps using PCR, *Dis. Aquat. Org.*, 1995, 25:133 ~ 141
- Lo C.F. . WSBV detected in cultured and captured shrimps crabs and other arthropods, *Dis. Aquat. Org.*, 1996, 27: 215 ~ 225
- Nakano H. . Mass mortalities of cultured kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, in Japan in 1993: Epizootiological study and infection trials, *Fish Pathology*, 1994, **29**(2) : 135 ~ 139
- Wang C.H. *et al.*. Purification and genomic analysis of baculovirus associated with white syndrome (WSBV) of *Penaeus monodon*, *Dis. Aquat. Org.*, 1995, 23: 239 ~ 242
- Wongteerasupa C. *et al.*. DNA fragment of *Penaeus monodon* baculovirus PmNOB II gives positive *in situ* hybridization with white-spot viral infections in six penaeid shrimp species, *Aquaculture*, 1996, 143:23 ~ 32
- Wongteersupaya C. *et al.*. A nonoccluded, systemic baculovirus that occurs in cells of ectodermal and mesodermal origin and causes high mortality in the black tiger prawn *Penaeus monodon*, *Dis. Aquat. Org.*, 1995, 21: 69 ~ 77

(本文编辑:刘珊珊)