

白斑综合征病毒感染与对虾的免疫防御反应

宋晓玲, 黄 健, 王秀华, 杨 冰

(农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室; 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 对虾白斑综合征病毒(WSSV)感染对虾后, 最典型的免疫反应是对虾开放循环系统的血淋巴细胞数量急剧下降, 血淋巴凝结功能下降, 感染部位聚集了大量的血淋巴细胞, 且以颗粒细胞为主。WSSV可感染对虾颗粒细胞和小颗粒细胞, 其中小颗粒细胞感染率高、感染速率快, 感染后大颗粒细胞占血细胞总数的比例可增加到50%; 血淋巴中的总糖、总碳水化合物、总蛋白和游离氨基酸显著提高, 超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和诱导性一氧化氮合成酶的活性显著降低。自然状态下广泛存在WSSV潜伏感染, 潜伏感染的存在会导致存在免疫反应情况下的感染复发, 并且有助于病毒的传播; 不同WSSV感染状态下过氧化物(POD)差异显著, 其平均值由大到小依次为: 潜伏感染虾样、中度感染虾样、严重感染虾样。而其抗菌活性(U_A)、溶菌活性(U_L)、酶氧化酶活性(PO)、碱性磷酸酶(ALP)和凝集效价(HAT)差异不显著; 潜伏感染个体对再次接种WSSV有“类免疫应答”的抗性, 这种抗性不是来源于发病期对虾的天然抗性, 而是WSSV感染后的一种免疫系统增强。宿主细胞凋亡可能是感染对虾在高温时反而维持较高成活率的主要机制。免疫增强剂可对对虾防御WSSV感染产生影响, 脂多糖、葡聚糖、肽聚糖、岩藻依聚糖和双链核糖核酸都被证实可提高对虾抗病毒感染的免疫保护。WSSV主要囊膜蛋白VP28可诱导对虾对WSSV感染产生抗性降低累积死亡率, 高效价的病毒抗血清具有良好的保护作用; 对虾抗菌肽也可通过抑制病毒的复制而起保护作用。[中国水产科学, 2006, 13(6): 1 033 - 1 039]

关键词: 白斑综合征病毒; 对虾; 感染; 免疫防御

中图分类号: S945.469

文献标识码: A

文章编号: 1005 - 8737 - (2006)06 - 1033 - 07

对虾白斑综合征病毒(White spot syndrome virus, WSSV)是一种毒性高、致病力极强的病毒, 由于其分布范围广、宿主覆盖面广、危害严重, 已成为最受关注的甲壳类病毒。随着WSSV研究的深入, 有关病毒感染与对虾的免疫防御反应得到了越来越多的关注, 这部分研究结果和结论不仅丰富了对虾免疫理论, 为抗病毒免疫研究提供了思路和方法, 也为生产上防病治病以及抗病毒药物的研制奠定了理论基础。本研究重点介绍WSSV急性感染和潜伏感染状况下对虾的免疫防御反应, 以及对虾免疫防御反应对病毒感染过程和结果的影响; 并特别就抗病毒感染途径研究进展情况作一简要概述, 旨在为WSSV感染的免疫机理研究及免疫防治技术开发提供参考。

1 WSSV急性感染时对虾的免疫反应

与脊椎动物的机体免疫系统比较, 甲壳动物的

机体免疫系统是不完善的, 但它的机体免疫系统依然是快速、复杂和高效的^[1]。自WSS发病之初, 对虾针对WSSV感染的免疫防御反应就受到了科研人员的重视, 并开展了一些相应的研究。病毒感染斑节对虾(*Penaeus monodon*)和日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)后, 最典型的免疫反应是对虾开放循环系统的血淋巴细胞数量急剧下降, 血淋巴凝结功能下降^[2-3], 而感染部位则聚集了大量的血淋巴细胞, 且以颗粒细胞为主^[4]。Wang等^[5]利用荧光免疫检验法(IFA)和瑞氏-姬姆萨双染色法得出WSSV可感染对虾大颗粒细胞和小颗粒细胞, 而且以小颗粒细胞感染率高、感染速率快。张志栋等^[6]利用单克隆抗体免疫细胞化学方法, 得出凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)感染WSSV后, 大颗粒细胞占血细胞总数的比例可增加到50%, 而通常的比例只有15%。

除细胞的免疫反应外, 对虾组织和免疫酶也对

收稿日期: 2005 - 09 - 04; 修订日期: 2006 - 01 - 06。

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)项目(2003AA622060)。

作者简介: 宋晓玲(1962 -), 女, 副研究员, 主要从事海水养殖动物疾病学研究。E-mail: songxl@ysfri.ac.cn

病毒感染产生了一系列的免疫反应。印度对虾(*Fenneropenaeus indicus*)感染 WSSV 后,其血淋巴中的总糖、总碳水化合物、总蛋白和游离氨基酸显著提高,而肌肉和造血组织的总糖、总碳水化合物、总蛋白和游离氨基酸显著减少^[7]。凡纳滨对虾感染 WSSV 后其体内超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的活性显著降低,而脂肪代谢产物丙二醛的含量却显著升高^[8]。中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)在感染 WSSV 后,诱导性一氧化氮合酶(iNOS)活性在 12 h 内有上升趋势,36 h 后酶活性显著下降,至 60 h 酶活性降至对照组的一半左右。说明 WSSV 在感染中国对虾初期可以诱导血细胞产生 iNOS,但随着 WSSV 在中国对虾体内的大量增殖及其在对血细胞的破坏,使得 iNOS 活性显著降低,对虾也趋于死亡^[9]。

2 WSSV 潜伏感染时对虾的免疫状况

多项研究数据和调查报告证实自然状态下广泛存在 WSSV 潜伏感染,利用微阵列(Microarray)技术甚至可在无特定病原感染(SPF)对虾中查出 WSSV 潜伏感染的相关基因^[10]。邱德全等^[11]利用 2 步 PCR 技术对广东湛江和阳西地区 32 家养殖场的斑节对虾(*Penaeus monodon*)虾苗进行 WSSV 检测,结果有 25% 的虾苗携带病毒。雷质文等^[12]从不同发病状态的养殖池随机采集中国对虾,运用斑点杂交和组织病理研究发现,在未发病池、发病池和发病后幸存虾池的虾样中,存在很高比例的 WSSV 潜伏性带毒个体。未发病虾池的对虾中 91.1% 处于潜伏感染,发病后虾池幸存个体的 96.5% 的对虾处于潜伏感染,正在发病虾池的 15.6% 个体处于潜伏感染。徐丽美等^[13]利用定量 PCR 检测了 6 批 134 尾不同感染程度的对虾样品。结果显示,无病症的对虾样品组织所携带的病毒量低于 10^3 个/mg 病毒粒子,有病灶的对虾样品组织所携带的病毒量均高于 10^3 个/mg 病毒粒子,认为 WSS 暴发的危险临界值为 10^3 个/mg 病毒粒子。WSSV 可感染对虾无节幼体、蚤状幼体、糠虾幼体和仔虾幼体前期(P1 - P10),但感染后无任何发病症状,呈潜伏感染;而 P11 以后仔虾幼体和幼虾不仅 PCR 检测为阳性,而且可观察到明显的死亡率,呈急性感染^[14]。

WSSV 潜伏感染个体不仅在自然状态下大量存在,在实验室条件下也可获得。刘波等^[15]将病毒粗提液稀释 $10^4 \sim 10^6$ 倍注射感染日本囊对虾(*Marsu-*

penaeus japonicus),感染对虾没有出现急性临床症状,体表特征和行为与正常健康对虾相同,其感染病毒只能通过套式 PCR 方法检出,认为病毒通过内化模式存在于对虾体内而不被分解破坏,在对虾体内以潜伏状态存在。笔者最近的研究也证实,合理控制实验条件可保证 80% 以上感染对虾存活,而且 DNA 斑点杂交结果显示,存活对虾均是 WSSV 感染者^[16]。

潜伏感染指在受染细胞内有病毒基因组持续存在,但并无感染性病毒颗粒产生,而且受染细胞也不会被破坏。潜伏感染是病毒感染的一种静止状态,会导致存在免疫反应的情况下感染的复发,并且有助于病毒的传播。Peng 等^[17]通过对 27 个斑节对虾养殖池的跟踪调查,确认如果育苗期的无节幼体呈 WSSV 阳性,到养殖期末平均成活率只有 20%,而 WSSV 阴性的无节幼体到养殖期末平均成活率达到 70% ~ 80%,且平均单产也显著高于前者。这一结果与之前报道的,在泰国调查的 188 个斑节对虾养殖池的 WSS 发生和流行状况相吻合^[18]。由此可见,鉴于 WSSV 潜伏感染的广泛存在和潜在危害,开展潜伏感染发生机理和调控机制的研究不仅重要,而且十分迫切。

WSSV 潜伏感染时对虾的免疫状况尚鲜见报道。雷质文等^[12]比较了采自青岛琅琊台 WSS 发病虾池 32 尾不同病毒感染程度中国对虾血淋巴各项免疫酶活性的差异。首先根据核酸斑点杂交和病理变化结果,将对虾受 WSSV 感染的程度分为潜伏感染、轻度感染、中度感染和严重感染。结果显示,不同 WSSV 感染状态下只有过氧化物酶(POD)活性差异显著,其平均值由大到小依次为:潜伏感染虾样、中度感染虾样、严重感染虾样,而其抗菌活性(U_A)、溶菌活性(U_L)、酚氧化酶活性(PO)、碱性磷酸酶活性(ALP)和凝集效价(HAT)差异不显著(图 1)。除对虾血淋巴免疫酶活性在不同感染状态时存在差异外,在病毒由潜伏感染转化为急性感染的过程中,对虾体内造血系统被激活,导致血细胞密度上升^[19]。

3 对虾免疫防御反应对 WSSV 感染产生的影响

对虾感染 WSSV 后,呈现由外胚层和中胚层起源的组织坏死,受感染的细胞核肥大,程度不一的嗜碱性核中心包涵体被迁移到边缘的染色质所包围^[20]。在对虾养殖生产中,WSSV 的感染可造成养

殖对虾大面积发病死亡,死亡率可达 80% ~ 95%^[21]。WSSV 感染可引起对虾的大面积急性死亡,但感染的过程和结果,不仅取决于病毒的性质,也取决于对虾的防御体系和防御功能。不同品种的对虾抗感染力不同^[22-23],同一种对虾的不同发育阶段抗感染力也有所不同^[24-25]。有研究表明,WSSV 自然发病 4 个月对幸存日本囊对虾进行再次感染,其相对存活率可达 94%;对注射感染 WSSV 后

幸存对虾进行再次感染时,相对存活率可达 77%;由此认为潜伏感染个体对再次接种 WSSV 有“类免疫应答”(quasi-immune response)的抗性,这种抗性不是来源于发病期对虾的天然抗性,而是 WSSV 感染后的一种免疫系统增强^[26]。在“SPF/SPR 对虾培育技术”和“对虾高健康品种选育”等项目研究中,通过对幸存对虾的累代选育,也观察到中国对虾对 WSSV 感染的耐受力呈增加的趋势。

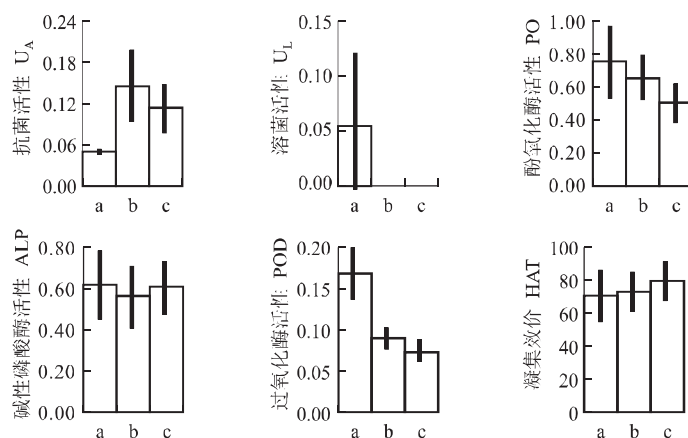


图1 WSSV 发病虾池中不同感染状态虾样各项免疫酶活性的比较^[12]

a - 潜伏感染; b - 中度感染; c - 严重感染。

Fig. 1 Comparison of immuno-enzymatic activity under different infected stage of WSSV infection in shrimp pond which had occurred white spot disease^[12]

a - Latent infection. b - Medium infection. c - Serious infection.

4 WSSV 感染与细胞凋亡

凋亡(Apoptosis)在宿主细胞的抗病毒扩张中起着重要的防御作用,许多病毒存在着抗凋亡基因用于对抗宿主细胞以死亡来防御的反应。近年来有学者观察和分析了细胞凋亡在 WSSV 感染过程中的作用,Granja 等^[27]首先观察到发热可促进 WSSV 感染后凡纳滨对虾的细胞凋亡,并由此推断宿主细胞凋亡是感染对虾在高温时(32 ℃)反而维持较高成活率的主要机制。Wu 等^[28]通过实验分析发现,日本囊对虾感染 WSSV 后,通过 TUNEL(terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-nick end labeling kit)分析可在对虾的类淋巴器官检测到细胞凋亡,特别是在病毒感染的初期,且感染剂量越高凋亡现象越明显;但二次感染时细胞凋亡现象比一次感染就减弱了许多;由此推测日本囊对虾对病毒二次

感染的抗性作用不是由细胞凋亡引起的,可能是由某一或某些对虾免疫因子作用于病毒,而使病毒感染能力降低引起的。最近的实验证实了 WSSV 的 ORF390 是凋亡相关基因,它类似于 AcMNPV 的 P35 基因^[29]

5 免疫增强剂对对虾防御 WSSV 感染的影响

免疫增强剂主要是通过活化自身的免疫机能而显示机体的防御效果,具有作用广泛、安全性高等特点。免疫增强剂可激活对虾血淋巴中的吞噬细胞,提高吞噬病原菌能力;刺激血淋巴中抗菌、溶菌活力的产生或升高;激活酚氧酶原系统产生识别信号及介导吞噬等功能。

5.1 脂多糖(Lipopolysaccharides, LPS)

泰国在 WSS 流行初期曾做了一个室外实验,在这个实验里,斑节对虾幼虾在放苗之前用 LPS 浸

浴,并在养殖期间每隔 30 d 连续 7 d 投喂添加了 LPS 的饲料。养殖 90 d 后,5 个实验池的平均成活率为 49.2%,5 个对照池的平均成活率为 39.5%,实验池比对照池成活率提高了 25%^[30]。随后,印度尼西亚做了一个生产性推广实验,在这个实验里,65 个实验池的斑节对虾经 LPS 浸浴并投喂添加了 LPS 的饲料,其中只有 3 个虾池感染 WSSV 发病;而 10 个对照池中有 2 个虾池感染 WSSV 发病。这些数据有力地说明 LPS 可降低 WSSV 的感染,并希望大大提高患病虾池对虾的成活率^[30]。

5.2 葡聚糖 (Glucan)

饲料中添加来源于裂褶菌 (*Schizophyllum commune*) 的 β -葡聚糖饲喂斑节对虾 20 d 后,通过注射 WSSV 进行攻毒实验,显示 β -葡聚糖可提高对虾抗 WSSV 活性^[31]。饲料中添加来源于啤酒酵母的 β -葡聚糖饲喂凡纳对虾 60 d 后,通过注射 WSSV 进行对虾攻毒实验,结果在攻毒的 14 d 内,对照组的累积死亡率显著高于 β -葡聚糖实验组,3 个 β -葡聚糖实验组的免疫保护率为 75%~85%^[32]。葡聚糖和 LPS 混合使用效果更加显著。巴拿马 1 个农场做了一个具有商业性质的实验,实验包括 3 个 4.05 hm² 的养殖池,在对虾放养 28 d 后,投喂添加了 LPS (Penstim) 和葡聚糖 (Betagard) 复合物的饲料。结果显示,投喂免疫饲料的虾池比投喂普通饲料的虾池对虾的成活率提高了 55%,个体增大了 9.3%,产量增加 15.4%^[33]。

5.3 肽聚糖 (Peptidoglycan, PG)

Itami 等^[34]以 0.2 mg (PG)/kg (BW)/d 的剂量饲喂日本囊对虾 (*Penaeus japonicus*) 95 d,期间以浸浴的方式进行 WSSV 连续攻毒。结果显示,PG 有很明显的免疫保护效果。Sitdhi 等^[35]研究了一种由多种杆菌组成的 PG 混合物的抗 WSSV 活性,在这个实验中 PG 的剂量分别为 1 mg/kg (BW)/d、10 mg/kg (BW)/d、50 mg/kg (BW)/d,连续投喂 17 d。在第 8 天,用 WSSV 攻毒,监测感染实验开始 10 d 后对虾的存活情况。结果显示,投喂 PG 最低剂量的实验组的存活率为 60%,而对照组的存活率为 5%。本实验室在完成菌种的筛选、大规模发酵条件的建立、菌体收集与有效成分的提取工艺的基础上,开发和研制了一种肽聚糖免疫增强剂,并对肽聚糖作用效果进行了综合分析比较,结果证实肽聚糖制剂经口服和浸浴两种方式均能增强日本对虾仔虾抗

WSSV 的感染力,口服肽聚糖制剂可提高凡纳滨对虾幼虾和成虾抗 WSSV 感染力;并通过病毒检测结果证实,WSSV 的深度感染是实验对虾致死的根本原因,感染实验中对虾存活的原因并非未感染上 WSSV,而是感染的程度较轻^[16,36]。

5.4 岩藻依聚糖 (Fucoidan)

Takahahi 等^[37]证实了一种硫酸海藻细胞壁衍生物——岩藻依聚糖,可通过破坏 WSSV 的病毒囊膜起到抗 WSSV 活性。作者用岩藻依聚糖的提纯制剂,以 60 mg/kg (TW)/d、100 mg/kg (TW)/d 两种剂量投喂日本囊对虾,随后用 WSSV 攻毒。结果饲喂岩藻依聚糖的 2 个实验组的对虾成活率分别为 80% 和 82%,而对照组的实验动物全部死亡。

5.5 核酸

Robalino 等^[38]尝试利用 dsRNA 诱导凡纳滨对虾抗病毒保护,dsRNA 处理后,对虾增加了对两种互不相干病毒 WSSV 和 TSV (桃拉病毒) 的感染抗性,这种抗病毒能力的大小依赖于 dsRNA 的序列。结果提示 dsRNA 可作为病毒相关分子模型被无脊椎动物免疫系统识别,并引发内部抗病毒反应。

6 阻断 WSSV 感染的途径

WSSV 具有很强的侵染性和复制能力,可广泛感染大多数对虾属的成员、多种小型虾类、多种蟹类,病毒易经过水体或水域内的生物作载体传播流行。在生产中采取培育和使用未被病毒感染的健康虾苗,应用生物、物理和化学手段消灭病毒及病毒携带者,建立有限水交换系统,使用优质饲料等措施控制 WSSV 的发生与流行^[39]。就对虾自身而言,由于其免疫机制主要是非特异性免疫,对于病毒感染的特异性免疫不完全或不存在,使疫苗防治途径在理论上缺乏依据。近年来,科学家尝试利用分子生物学技术和现代免疫学技术寻找阻断 WSSV 感染的可能途径,从而达到特异性控制病毒感染的目的。WSSV 主要囊膜蛋白 VP28 是研究者最多关注的结构蛋白。van Hulton 等^[40]通过 VP28 的多克隆抗体达到中和 WSSV 感染的目的,并推测该结构多肽在 WSSV 最初的感染入侵中起作用,并在 2004 年利用体外表达的 VP28 诱导对虾对 WSSV 感染产生抗性^[41]。Li 等^[42]随后将 VP28 和 VP19 混合蛋白的表达产物作为抗原,观察其兔抗血清对螯虾 (*Cambarus clarkia*) 抵御 WSSV 感染的效果,结果抗

血清中和组在第20天仍无死亡,而WSSV粗提液感染的阳性对照组 LT_{50} 为6 d,死亡率为84%,显示高效价的病毒抗血清对实验螯虾可起到较好的保护作用。对虾抗菌肽同样受到研究者的关注,将WSSV与合成的抗菌肽—Mytilin ($2.5 \mu\text{mol}$)预先孵育30 min后,可显著降低长臂虾(*Leander squilla*)病毒感染死亡率,认为Mytilin通过抑制病毒的复制而起到保护作用^[43]。

病毒感染就其本质而言是一种分子感染,阐明病毒致病和宿主产生免疫的机制是病毒感染分子机理研究的重要内容,其中病毒急性感染和潜伏感染的发生机理,特别是病毒在潜伏感染过程中,产生非杀细胞感染和病毒逃逸宿主免疫识别的作用机制,对于揭示病毒感染的分子机理、有的放矢地控制病毒的发生与流行十分重要。目前,WSSV感染时对虾的抗病毒免疫具有许多未被人们认识到的机理,如大规模急性死亡后少量存活虾的存活机制是什么?对虾不同个体、不同种类间抗感染差异的机制是什么?对虾潜伏感染和急性感染的机制是什么等。简而言之,亟待对WSSV的感染与对虾抗病毒感染的免疫机能的关系进行系统性的深入研究。

参考文献:

- [1] Söderhall K, Thomqvist P O. Crustacean immunity—a short review[J]. Dev Biol Stand, 1997, 90: 45–51.
- [2] 张吕平, 胡超群, 吴灶和. 实验感染的斑节对虾杆状病毒(WSBV)的斑节对虾血液病理学研究[J]. 热带海洋, 2000, 19(3): 1–7.
- [3] Rojtninnakorn J, Hirono I, Itami T, et al. Gene expression in haemocytes of kuruma prawn, *Penaeus japonicus*, in response to infection with WSSV by EST approach[J]. Fish Shellfish Immunol, 2002, 13(1): 69–83.
- [4] van de Braak C B, Botterblom M H, Huisman E A, et al. Preliminary study on haemocyte response to white spot syndrome virus infection in black tiger shrimp *Penaeus monodon* [J]. Dis Aquat Org, 2002, 51: 149–155.
- [5] Wang Y T, Liu W, Seah J N, et al. White spot syndrome virus (WSSV) infects specific hemocytes of the shrimp *Penaeus merguensis* [J]. Dis Aquat Org, 2002, 52: 249–259.
- [6] 张志栋, 战文斌, 薛艳红, 等. 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)感染白斑症病毒(WSSV)后大颗粒血细胞的变化[J]. 海洋与湖沼, 2005, 36(1): 67–71.
- [7] Yoganandhan K, Thirupathi S, Sahul Hameed A S. Biochemical, physiological and hematological changes in white spot syndrome virus-infected shrimp, *Penaeus indicus* [J]. Aquaculture, 2003, 221: 1–11.
- [8] 宋林生, 苏建国, 蔡中华, 等. 正常与感染白斑病的凡纳滨对虾几项免疫指标变化的初步研究[A]. 甲壳动物学论文集(第四辑)[C]. 北京: 科学出版社, 2003. 335–340.
- [9] 姜国建, 于仁诚, 王云峰, 等. 中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)血细胞中一氧化氮合成酶的鉴定及其在白斑综合症病毒感染过程中的变化[J]. 海洋与湖沼, 2004, 35(4): 342–350.
- [10] Khadijah S, Neo S Y, Hossain M S, et al. Identification of white spot syndrome virus latency-related genes in specific-pathogen-free shrimps by use of a microarray[J]. Virol, 2003, 77(18): 10 162–10 167.
- [11] 邱德全, 谢数涛, 齐雪娟, 等. 斑节对虾苗白斑综合症杆状病毒的检测和养殖跟踪[J]. 湛江海洋大学学报, 1999, 19(4): 11–15.
- [12] 雷质文, 黄 捷, 杨 冰, 等. 感染白斑综合症病毒(WSSV)对虾相关免疫因子的研究[J]. 中国水产科学, 2001, 8(4): 46–51.
- [13] 徐丽美, 杨 丰. 利用定量PCR方法研究对虾白斑杆状病毒感染与发病的关系[J]. 高技术通讯, 2001, 11(12): 9–11.
- [14] Yoganandhan K, Narayanan R B, Sahul Hameed A S. Larvae and early post-larvae of *Penaeus monodon* (Fabricius) experimentally infected with white spot syndrome virus (WSSV) show no significant mortality[J]. Fish Dis, 2003, 26(7): 385–391.
- [15] 刘 波, 俞志明. 建立白斑综合症病毒在日本对虾体内潜伏性感染的方法研究[J]. 海洋科学, 2003, 27(8): 72–76.
- [16] 宋晓玲, 王秀华, 陈国福, 等. 肽聚糖制剂提高凡纳对虾抗WSSV感染力的研究[J]. 高技术通讯, 2005, 15(1): 74–78.
- [17] Peng S E, Lo C F, Lin S C, et al. Performance of WSSV-infected and WSSV-negative *Penaeus monodon* postlarvae in culture ponds [J]. Dis Aquat Organ, 2001, 46(3): 165–172.
- [18] Withyachumnarnkul B. Results from black tiger shrimp *Penaeus monodon* culture ponds stocked with postlarvae PCR-positive or-negative for white spot syndrome virus (WSSV) [J]. Dis Aquat Organ, 1999, 39(1): 21–27.
- [19] 刘 波, 俞志明. 盐度突变对潜伏感染白斑综合症病毒的中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)抗病力的影响[J]. 海洋与湖沼(973 论文专辑), 2003(9): 114–119.
- [20] 黄 捷, 宋晓玲, 于 佳, 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[J]. 海洋水产研究, 1995, 16(1): 1–10.
- [21] 蔡生力, 黄 捷, 王崇明, 等. 1993—1994 年对虾暴发性流行病的研究[J]. 水产学报, 1995, 19(2): 112–118.
- [22] Wongteerasupaya C, Pungchai P, Withyachumnarnkul B, et al. DNA fragment of *Penaeus monodon* baculovirus PmNOBII gives positive *in situ* hybridization with white-spot viral infections in six penaeid shrimp species [J]. Aquaculture, 1996, 143: 23–32.
- [23] 何建国, 周化民, 姚 伯, 等. 白斑综合症杆状病毒的感染途径和宿主种类[J]. 中山大学学报(自然科学版), 1999, 38(2): 65–69.
- [24] Lo C F, Ho C H, Peng S E, et al. White spot syndrome baculovirus (WSBV) detected in cultured and captured in cultured shrimp,

- crabs and other arthropods[J]. Dis Aquatic Org, 1996, 27(3): 215 – 225.
- [25] 宋晓玲, 史成银, 黄 健, 等. 用 DNA 斑点杂交法检测对虾及其饵料和环境生物携带白斑综合症病毒状况的调查[J]. 中国水产科学, 2001, 8(4): 36 – 40.
- [26] Venegas C A, Nonaka L, Mushiake K, et al. Quasi-immune response of *Penaeus japonicus* to penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV)[J]. Dis Aquat Organ, 2000, 42(2): 83 – 89.
- [27] Granja C B, Aranguren L F, Vidal O M, et al. Does hyperthermia increase apoptosis in white spot syndrome virus (WSSV)-infected *Litopenaeus vannamei*? [J]. Dis Aqua Org, 2003, 54: 73 – 78.
- [28] Wu J L, Muroga K. Apoptosis does not play an important role in the resistance of 'immune' *Penaeus japonicus* against white spot syndrome virus[J]. Fish Dis, 2004, 27(1): 15 – 21.
- [29] Wang Z, Hu L, Yi G, et al. ORF390 of white spot syndrome virus genome is identified as a novel anti-apoptosis gene[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 325(3): 899 – 907.
- [30] Raa J. A review of the use of non specific immune-stimulants to reduce the impact of the WSSV[A]. Fifth Ecuadorian Aquaculture Conference[C]. Presented by Stephen G. Newman Ph. D. President and CEO, Lynnwood: Aqua-In-Tech, Inc. 1999. 28 – 30.
- [31] Chang C F, Su M S, Chen H Y, et al. Effect of dietary beta-1,3-glucan on resistance to white spot syndrome virus (WSSV) in postlarval and juvenile *Penaeus monodon*[J]. Dis Aquat Organ, 1999, 36: 163 – 168.
- [32] 谭北平, 周歧存, 郑石轩, 等. β -1,3/1,6-葡聚糖汁及对凡纳对虾生长及免疫力的影响[J]. 高技术通讯, 2004, 14(5): 73 – 77.
- [33] Devaraja T N, Otta S K, Shubha G, et al. Immunostimulation of shrimp through oral administration of vibrio bacterin and yeast glucan[A]. In Flegel TW(ed) Advances in Shrimp Biotechnology[C]. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology. Bangkok, 1998. 167 – 170.
- [34] Itami T, Asano M, Tokushige K, et al. Enhancement of disease resistance of kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, after oral administration of peptidoglycan derived from *Bifidobacterium thermophilum* [J]. Aquaculture, 1998, 164: 277 – 288.
- [35] Sitdhi B, Mali B. Effects of peptidoglycan (PG) on growth, survival, Immune response and tolerance to stress in black tiger shrimp, *Penaeus monodon* [A]. Diseases in Asian Aquaculture II[C], Tokyo: Ajinomoto Co., Inc. 1998. 469 – 477.
- [36] 陈国福, 宋晓玲, 黄 健, 等. A3 α 肽聚糖对凡纳对虾幼体生长及抗病毒感染力的影响[J]. 中国水产科学, 2004, 11(5): 448 – 455.
- [37] Takahasi Y, Uehara K, Watanabe R. Efficacy of Oral Administration of Fucoidan, a Sulfated Polysaccharide, in Controlling White Spot Syndrome in Kumura Shrimp in Japan[A]. Flegel TW(ed). Advances in Shrimp Biotechnology[C]. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology. Bangkok, 1998. 171 – 173.
- [38] Robalino J, Browdy C L, Prior S, et al. Induction of antiviral immunity by double-stranded RNA in a marine invertebrate[J]. Virol, 2004, 78(19): 10 442 – 10 448.
- [39] 杨丛海, 黄 健. 对虾无公害健康养殖技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002. 1 – 6.
- [40] van Hulten MCW, Witteveldt J, Snippe M, et al. White spot syndrome virus envelope protein VP28 is involved in the systemic infection of shrimp[J]. Virology, 2001, 285: 228 – 233.
- [41] Witteveldt J, Vlask J M, van Hulten M C. Protection of *Penaeus monodon* against white spot syndrome virus using a WSSV subunit vaccine[J]. Fish Shellfish Immunol, 2004, 16(5): 571 – 579.
- [42] Li H X, Meng X L, Xu J P, et al. Protection of crayfish, *Cambarus clarkii*, from white spot syndrome virus by polyclonal antibodies against a viral envelope fusion protein[J]. J Fish Dis, 2005, 28(5): 285 – 291.
- [43] Dupuy J W, Bonami J R, Roch P. A synthetic antibacterial peptide from *Mytilus galloprovincialis* reduces mortality due to white spot syndrome virus in palaemonid shrimp[J]. Fish Dis, 2004, 27(1): 57 – 64.

Infection of white spot syndrome virus and defense reaction of penaeid shrimp

SONG Xiao-ling, HUANG Jie, WANG Xiu-hua, YANG Bing

(Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fishery Resources, Ministry of Agriculture; Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: After being infected by white spot syndrome virus (WSSV), the typical defense reaction of penaeid shrimp is that the hemocytes in opening circle system decrease rapidly; the coagulating function of hemolymph weakens and abundant hemocytes and hemocytes get together to the infected part, mainly granular cells. The virus could infect the granular and semigranular hemocytes. The semigranular hemocytes contain higher virus loads and exhibit faster infection rate, and are apparently more susceptible to WSSV infection. The granular hemocytes proportion of total hemocytes can get to 50% after WSSV infection. There is a significant increase in glucose, total carbohydrate and amino acid levels and significant decrease in enzyme activities of superoxide dismutase, catalase and induced nitric oxide synthetase in the hemolymph of WSSV-infected shrimp. Latent infection occurs frequently in natural state and causes infection relapse easily. The POD activity of hemolymph supernatant is significantly different among different infected degrees by WSSV in WSS-outbreak pond. In latent infection POD activity has the highest value and in serious infection POD activity is the lowest. The antibiotic activity, bacteriolytic activity, PO activity, ALP activity and HAT activity aren't significantly different among the different infected degrees by WSSV in the WSS-outbreak pond. Penaeid acute viremia survivors (natural or experimental) are able to resist WSSV infection and the resistance is not due to selection of naturally resistant shrimp during a PAV outbreak, but due to enhancement of an immune-like system (quasi-immune response) after exposure to WSSV. Apoptosis of host cells may be one of the mechanisms responsible for increased survival of infected shrimp maintained at higher temperature. Immunostimulants may reduce the impact of WSSV. Of those immunoetumulants, lipopolysaccharide, β -glucan, peptidoglycan, fucoidan and dsRNA have been approved to enhance the anti-infection ability to WSSV. Vaccination with WSSV envelope proteins, such as VP28, shows a significantly lower cumulative mortality after challenge via immersion. Antibacterial peptide may reduce mortality due to WSSV in palaemonid shrimp by inhibiting the virus replication. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(1): 1 033 – 1 039]

Key words: WSSV; penaeid shrimp; infection; defence