

几种理化因子对急性感染 WSSV 凡纳滨对虾的影响*

陈勇贵¹, 梁秋玲², 何建国^{1,2}

(1. 中山大学海洋学院, 广东 广州 510275;
2. 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘要: 根据正交试验表 L16 (4^5), 对海水盐度、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 质量浓度、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 质量浓度、pH 及感染 WSSV 的量各 4 个水平进行研究, 发现这些因素对凡纳滨对虾存活时间的影响大小顺序为: $\text{pH} > \text{WSSV} > \text{NO}_2^- - \text{N} > \text{NH}_4^+ - \text{N} > \text{盐度}$ 。其中, pH、WSSV、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 与凡纳滨对虾的平均存活时间的相关性达到极显著水平 ($P < 0.01$), 而盐度与凡纳滨对虾的平均存活时间的相关性没有达到显著水平 ($P > 0.05$)。

关键词: 凡纳滨对虾; 白斑综合症病毒; 理化因子

中图分类号: S945.4⁺9 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2010) 06-0078-06

Effects of Water Physical and Chemical Factors on WSSV-Infected *Litopenaeus vannamei*

CHEN Yonggui¹, LIANG Qiuling², HE Jianguo^{1,2}

(1. School of Marine Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;
2. School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: According to the orthogonal test Tab. L16 (4^5), the effects of 5 factors (salinity, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$, $\text{NO}_2^- - \text{N}$, and pH of seawater and quantity of WSSV) with 4 levels on the survival time of *L. vannamei* were investigated. The results indicated that the contribution of those 5 factors to the mean survival time of *L. vannamei* was sequenced as $\text{pH} > \text{WSSV} > \text{NO}_2^- - \text{N} > \text{NH}_4^+ - \text{N} > \text{salinity}$. The coefficients between the mean survival time of *L. vannamei* and WSSV, pH, $\text{NO}_2^- - \text{N}$, and $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ were significant ($P < 0.01$), and the coefficient between the mean survival time of *L. vannamei* and salinity was not significant ($P > 0.05$).

Key words: *Litopenaeus vannamei*; white spot syndrome virus (WSSV); physical and chemical factors

凡纳滨对虾 *Litopenaeus vannamei* 是世界主要对虾养殖品种, 也是中国对虾养殖区的主要养殖品种。由白斑综合症病毒 (White Spot Syndrome Virus, WSSV) 引起的白斑综合症 (White Spot Syndrome, WSS) 是凡纳滨对虾最主要病害之一。WSSV 的潜伏感染现象很普遍, 在养殖季节, 对虾养殖区内的 WSSV 宿主的感染率高达 80%^[1-2], 虾苗、成虾以及亲虾都可以携带 WSSV^[1,3-8]。对

虾 WSSV 潜伏感染在水体理化因子胁迫下可转化为急性感染导致 WSS 的暴发流行。因此, 养殖环境胁迫严重时该病暴发导致养殖失败, 引起巨大的经济损失^[9-10]。水体理化因子在 WSS 的暴发流行中起到激发作用^[1,10]。我们通过人为改变养殖海水的理化因子, 研究了多种理化因子对急性感染 WSSV 的凡纳滨对虾平均存活时间的影响。结果报导如下。

* 收稿日期: 2009-10-11

基金项目: 国家科技支撑计划资助项目 (2006BAD09A07), 科技部基金资助项目 (2007BAD29B06), 公益性行业 (农业) 科研专项经费资助项目 (200803012), 广东省海洋科技推广专项项目 (A2009008-047 (a))

作者简介: 陈勇贵 (1969 年生), 男, 博士; 通讯作者: 何建国; E-mail: lsshjg@mail.sysu.edu.cn

1 材料和方法

1.1 健康凡纳滨对虾

凡纳滨对虾在 10 m^3 的水泥池中养成。实验时对虾平均体长 (7.5 ± 0.51) cm, 平均体质量 (3.71 ± 0.550) g。实验前将对虾从水泥池移入实验室后于天然海水中暂养 7 d。实验前随机抽取 30 尾作 WSSV PCR 检测^[11], 均呈阴性。选取肢体完整, 活力好, 无其它病症的对虾进行实验。

1.2 患病凡纳滨对虾

患 WSS 的凡纳滨对虾体长 7.0~8.0 cm, 头胸甲及腹部甲壳上有大量白斑。经 WSSV PCR 一步法检测呈阳性。用病虾肌肉组织投喂健康凡纳滨对虾, 后者出现 WSS 病症并死亡。病虾置 $-85\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存备用。

1.3 天然海水

天然海水经沉淀, 砂滤净化, pH 7.43~7.94, 盐度 31.0‰~33.0‰, ρ (溶解氧) $> 5.0\text{ mg/L}$, $\rho(\text{NH}_4^+ - \text{N}) < 0.050\text{ mg/L}$, $\rho(\text{NO}_2^- - \text{N}) < 0.011\text{ mg/L}$, $\rho(\text{NO}_3^- - \text{N}) < 0.030\text{ mg/L}$, $\rho(\text{PO}_4^{3-}) < 0.019\text{ mg/L}$, 温度 $30.0\text{ }^\circ\text{C}$ ~ $32.0\text{ }^\circ\text{C}$ 。

1.4 各因子的设置

实验所用的 NaCl、 NH_4Cl 、 NaNO_2 、HCl、

NaOH 等均为广州化学试剂厂生产的分析纯。

本实验共设置盐度、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 质量浓度、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 质量浓度、pH 值和注射 WSSV 的量等 5 个因素, 每一因素设置 4 个水平。其中盐度设置 10.0‰、20.0‰、30.0‰、40.0‰ 共 4 个水平, 试验海水盐度用天然海水添加淡水或添加 NaCl 方法调配。 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 质量浓度设置不添加 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的天然海水、8.00 mg/L、20.00 mg/L 和 40.00 mg/L 共 4 个水平。试验海水的铵基氮质量浓度用 NH_4Cl 母液调配 (铵基氮 ($\text{NH}_4^+ - \text{N}$) 质量浓度为 10 000 mg/L)。 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 质量浓度设置不添加 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 的天然海水、20.00 mg/L、50.00 mg/L 和 100.00 mg/L 共 4 个水平。试验海水的亚硝基氮质量浓度用 NaNO_2 母液调配 (亚硝基氮 ($\text{NO}_2^- - \text{N}$) 质量浓度为 10 000 mg/L)。pH 设置 5.00、6.50、7.80 和 9.50 共 4 个水平。试验海水的 pH 用 1 mol/L HCl 和 1 mol/L NaOH 调节。注射 WSSV 的量设置 0 copy (PBS)、645 copies、64 500 copies 和 0 copy (PBS) 共 4 个水平 (其中第一水平和第四水平重复)。WSSV 的制备见下述。实验按正交表 $L_{16}(4^5)$ 设置, 共 16 组 (表 1), 每组一个水簇箱 (容积 40 L, 实验时加入试验海水 30 L), 本试验共重复 2 次。

表 1 实验设置¹⁾

Table 1 Test design

组号	样本数		盐度/‰	$\rho(\text{NH}_4^+ - \text{N})$ /($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	$\rho(\text{NO}_2^- - \text{N})$ /($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	pH	WSSV/copies
	1 批	2 批					
1	10	9	10.0	—	—	5.0	0
2	11	11	10.0	8.00	20.00	6.5	64 500
3	10	10	10.0	20.00	50.00	7.8	645
4	10	10	10.0	40.00	100.00	9.5	0
5	11	11	20.0	—	20.00	7.8	0
6	8	9	20.0	8.00	—	9.5	645
7	11	9	20.0	20.00	100.00	5.0	64 500
8	9	9	20.0	40.00	50.00	6.5	0
9	14	10	30.0	—	50.00	9.5	64 500
10	9	10	30.0	8.00	100.00	7.8	0
11	10	11	30.0	20.00	—	6.5	0
12	12	8	30.0	40.00	20.00	5.0	645
13	10	10	40.0	—	100.00	6.5	645
14	9	10	40.0	8.00	50.00	5.0	0
15	10	10	40.0	20.00	20.00	9.5	0
16	11	9	40.0	40.00	—	7.8	64 500

1) “—” 表示天然海水中该因子的本底质量浓度

1.5 WSSV 粗提液的制备

WSSV 粗提液用患 WSS 的凡纳滨对虾制备。剪取病虾腹部肌肉组织按 1:10 (W:V) 的比例加入无菌磷酸缓冲液 (PBS: 800 mL dH_2O , 8.00 g

NaCl, 0.20 g KCl, 1.44 g Na_2HPO_4 , 0.20 g KH_2PO_4 , HCl 调节 pH 至 7.4, 加 dH_2O 至 1 L, 高压灭菌), 用玻璃组织研磨器冰浴研磨, 用 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 的微孔滤膜在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下过滤。经实时定量 PCR 检

测^[12], 此时滤液的病毒浓度为 1.29×10^8 copies/mL。用 PBS 稀释 100 倍、10 000 倍后 0.05 mL 的溶液中含 WSSV 的数量分别为 64 500 copies、645 copies。

1.6 感染方法

感染时用无菌注射器注射对虾, 注射部位位于对虾的第 2 和第 3 腹节之间连接处侧面, 向心进针约 0.5 ~ 1.0 cm, 实验组每尾注射 0.05 mL WSSV 粗提液。对照组每尾注射 0.05 mL PBS 溶液。注射后将对虾移入准备好的试验海水中。

1.7 养殖管理

实验期间每天投喂对虾配合饲料 1 次, 清污 2 次。每 24 h 换试验海水 1 次, 换水量 100%, 试验海水按 1.4 方法制备, 即备即用。24 h 连续通气。病死虾 (玻璃棒触碰无反应者) 及时移走, 并作记录。

1.8 数据处理

所有数据用 SPSS10.0 统计软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 凡纳滨对虾的平均存活时间

对虾的存活时间为注射后到死亡时之间的时间间隔, 如果实验结束时尚未死亡, 则以注射后到实验结束时之间的时间间隔为存活时间。

第 1 次实验结束时 (336.0 h), 各组对虾存活状况各不相同。其中, 有对虾存活的实验组有: 第 1 组有 5 尾生存, 第 5 组有 9 尾生存, 第 8 组有 1 尾生存, 第 11 组有 10 尾生存, 第 14 组有 3 尾生存。其余各组全部死亡。第 2 次实验结束时 (336.0 h), 各组对虾存活状况也各不相同。其中, 有对虾存活的实验组有: 第 1 组有 2 尾生存, 第 5 组有 8 尾生存, 第 11 组有 10 尾生存, 第 12 组有 1 尾生存, 第 14 组有 1 尾生存。其余各组全部死亡。各种因子影响下凡纳滨对虾平均存活时间见表 2。

表 2 不同处理的凡纳滨对虾的平均存活时间¹⁾

Table 2 Mean survival time of *L. vannamei* of different treatment

组号	样本数		盐度/%	$\rho(\text{NH}_4^+ - \text{N})$ /(mg · L ⁻¹)	$\rho(\text{NO}_2^- - \text{N})$ /(mg · L ⁻¹)	pH	WSSV /copies	平均存活时间 MST/h		总平均存活时间 TMST/h
	1 批	2 批						1 批	2 批	
1	10	9	10.0	—	—	5.0	0	252.8	186.0	221.2
2	11	11	10.0	8.00	20.00	6.5	64 500	45.5	90.7	68.1
3	10	10	10.0	20.00	50.00	7.8	645	76.3	59.3	67.8
4	10	10	10.0	40.00	100.00	9.5	0	1.0	1.0	1.0
5	11	11	20.0	—	20.00	7.8	0	315.3	286.5	300.9
6	8	9	20.0	8.00	—	9.5	645	42.1	70.6	57.2
7	11	9	20.0	20.00	100.00	5.0	64 500	40.6	43.9	42.1
8	9	9	20.0	40.00	50.00	6.5	0	118.8	123.7	121.3
9	14	10	30.0	—	50.00	9.5	64 500	37.2	25.4	32.3
10	9	10	30.0	8.00	100.00	7.8	0	79.2	88.7	84.2
11	10	11	30.0	20.00	—	6.5	0	336.0	306.0	320.3
12	12	8	30.0	40.00	20.00	5.0	645	97.6	176.0	128.9
13	10	10	40.0	—	100.00	6.5	645	66.1	70.2	68.1
14	9	10	40.0	8.00	50.00	5.0	0	215.1	266.5	242.2
15	10	10	40.0	20.00	20.00	9.5	0	2.0	2.0	2.0
16	11	9	40.0	40.00	—	7.8	64 500	32.9	43.3	37.6

1) MST: Mean Survival Time; TMST: Total Mean Survival Time

2.2 各因素对凡纳滨对虾平均存活时间影响的大小

计算各因素各水平下总平均存活时间的平均值, 用同一因素下最大的平均值减去最小的平均值得到该因素下的极差。结果, 各因素的极差大小依次为: pH 135.4 h, WSSV 116.6 h, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 110.2 h, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 83.4 h, 盐度 54.0 h。根据极差的大小可以得出各因素对凡纳滨对虾存活时间影响大小

顺序: $\text{pH} > \text{WSSV} > \text{NO}_2^- - \text{N} > \text{NH}_4^+ - \text{N} > \text{盐度}$ 。以因素水平为横坐标, 以平均存活时间为纵坐标可得图 1。

从图 1 可以看出。在盐度为 10.0 ~ 30.0 范围内, 盐度越高, 平均存活时间越长; 在实验范围内, 注射 WSSV 的量、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 质量浓度、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 质量浓度和 pH 值越低, 凡纳滨对虾的平均存活

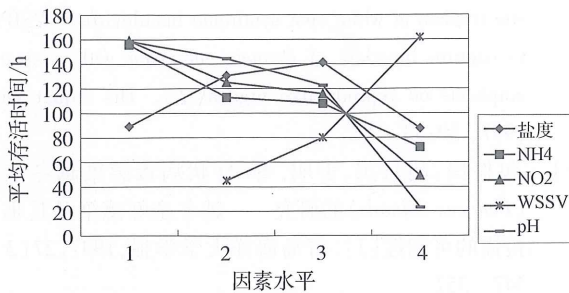


图1 不同因素水平下凡纳滨对虾的平均存活时间
Fig. 1 Relationship between the mean survival time of *L. vannamei* and different level of different factors

时间越长。本实验中, pH、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 和 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 对凡纳滨对虾平均存活时间的影响趋势与相应的单因素实验的结果(本课题研究资料)一致。但是, 盐度对凡纳滨对虾平均存活时间的影响趋势与单因素实验的结果不一致。

2.3 理化因子与对虾平均存活时间关系的回归分析

多元线性回归分析结果显示, WSSV、pH、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 和 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 等因素与凡纳滨对虾的平均存活时间的相关系数均达到极显著水平 ($P < 0.01$), 而盐度与凡纳滨对虾的平均存活时间的相关系数没有达到显著水平 ($P = 0.499 > 0.05$)。因此可建立 WSSV、pH、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 和 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 与凡纳滨对虾的平均存活时间关系的模型。经逐步回归分析可得回归方程:

$$Y = 421.894 - 28.448X_1 - 1.086X_2 - 1.44 \times 10^{-3}X_3 - 1.965X_4 \quad (R = 0.688)$$

式中, Y 为凡纳滨对虾的平均存活时间 (h), X_1 为 pH, X_2 为 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 的质量浓度 (mg/L), X_3 为 WSSV 的量 (copies), X_4 为 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的质量浓度 (mg/L)。

该模型经方差分析, $F = 70.974$, $P < 0.01$ 。可见, WSSV、pH、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 和 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 与凡纳滨对虾的平均存活时间之间存在线性关系。

从这一方程可以看出, WSSV 要对凡纳滨对虾的平均存活时间产生影响, 注射的量必须达到 10^3 copies 以上。在一般的海水中 ($\text{pH} \approx 8.0$), 如果注射的 WSSV 的数量达到 10^3 copies, 那么凡纳滨对虾可存活的时间为: 193 h (大约 8 d, $421.894 - 28.448 \times 8.0 - 1.44 \times 10^{-3} \times 10^3 \approx 193$, 氨氮, 亚硝基氮含量较少, 均在 10^{-1} mg/L 数量级以下, 在此为了计算方便将这两项忽略)。换言之, 在一般的感染实验中, 注射 WSSV 后 193 h, 如果对虾尚未出现死亡, 则意味着感染失败或 WSSV 已经转入潜伏感染(可进行 PCR 二步法确认); 同时, 从方

程还可以看出, 养殖水体的 pH 每下降一个单位, 平均存活时间就增加 28.448 h。可见, 养殖水体 pH 值的变化对平均存活时间的影响很大。

由于上述模型是在给定因素的一定范围内得出的, 所以上述模型的适用范围为: pH 5.0 ~ 9.5, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 的质量浓度 $\leq 100.0 \text{ mg/L}$, WSSV 的量 0 ~ 64 500 copies, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的质量浓度 $\leq 40 \text{ mg/L}$, 海水盐度 10.0‰ ~ 40.0‰。

本实验所得出的数学模型没有将因素之间可能存在交互作用考虑在内。所以, 当所考查的因素的交互作用不大时, 或者所考查的单个因素的水平对对虾的平均存活时间影响不是很大时, 该模型是适用的。但是, 当所考查的因素的交互作用很大时, 或者所考查的单个因素的水平对对虾的平均存活时间影响很大时, 该模型可能还不够精确。

3 讨论

在人工感染实验中感染了 WSSV 的养成期对虾死亡率最高可达 100%, 但对于不同的对虾种类采用不同的感染方式和不同的感染剂量, 感染后的死亡时间略有差别^[1,7,13,14]。本实验中, 用不同数量 WSSV 注射凡纳滨对虾, 死亡时间和死亡率都不相同, 也印证了这一观点。

pH 值的变化与池水中 CO_2 和有机酸的含量有直接的关系。 CO_2 的含量取决于浮游植物的光合作用和对虾池中生物的呼吸作用的强度。有机酸可由对虾排泄物、残饵和底泥中其他有机物氧化分解产生。两者均可降低水中的 pH 值^[15-17]。pH 降低可以增加有毒的铁离子和 H_2S 的含量。对虾血液的 pH 值降低, 其载氧能力被削弱, 能引起对虾发生缺氧症^[17]。pH 值升高则可促使低毒的 NH_4^+ 转化为毒性更大的 NH_3 , 同时, 高 pH 值的海水能腐蚀对虾的鳃组织, 影响对虾的呼吸功能。本试验中, 受 WSSV 急性感染的凡纳滨对虾的平均存活时间随着 pH 的增高而缩短。而斑节对虾杆状病毒 (*P. monodon baculovirus*, MBV) 的感染度随着 pH 值的升高而增高^[16-17]。

氨能降低鱼类、甲壳类和软体动物的能量代谢活动, 损害其鳃、肝、肾、脾和甲状腺组织^[18]。在养殖水体中总氨氮由处于平衡态的非离子氨 NH_3 和离子氨 NH_4^+ 两种形式所组成。其中, NH_3 是非极性化合物, 有较大的脂溶性, 能穿透细胞膜毒害组织, 因此, NH_3 的毒性比 NH_4^+ 大得多^[18]。这两种形式氨氮的比例主要取决于 pH, 也取决于温度、盐度和压力^[19]。在低 pH 值的情况下, NH_4^+ 在总

氨氮中占比例很高时也可表现出毒性作用^[20]。氨氮是影响 MBV 感染度的主要因子,其含量的增加可明显地增加 MBV 的感染度,两者呈线性相关关系^[17]。本试验中, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 质量浓度越高凡纳滨对虾的平均存活时间越小。

在本试验中,亚硝基氮质量浓度的增加能缩短凡纳滨对虾的平均存活时间。实际上,养殖水体中亚硝酸盐是氨在亚硝酸单胞菌 (*Nitrosomonas*) 的作用下形成的。在溶氧充足时,亚硝酸盐可在硝酸杆菌 (*Nitrobacter*) 作用下被氧化成硝酸盐。而在缺氧条件下,又可转化为氨氮^[21]。亚硝酸盐是强氧化剂,动物体吸收进入血液后能使血红蛋白中的二价铁氧化成三价铁,导致低氧血症,使各组织缺氧。甲壳类动物血液中的血蓝蛋白,其辅基是含铜的化合物,在亚硝酸盐的参与下,可能发生与血红蛋白相似的反应,从而引起缺氧和青紫症^[22]。亚硝酸盐浓度升高时,虾体内溶菌酶、PO 和 SOD 的活性显著下降,血细胞数目明显减少^[23]。高浓度的亚硝酸盐还能使试验虾肝胰腺、胃、中肠和鳃等组织产生异常变化,出现从细胞肿胀到空泡化、坏死等一系列的组织病理学变化^[24]。亚硝基氮对 MBV 的感染度也有明显的影响^[17]。

盐度可以影响病毒的复制速率,如在较高盐度下,感染有对虾传染性皮下与造血组织坏死病毒 (IHHNV) 的对虾生长比阴性对照者减慢^[25]。盐度也是影响 MBV 感染度的重要因子之一^[17]。但本实验中盐度与受 WSSV 急性感染的凡纳滨对虾的平均存活时间的相关系数没有达到显著水平。可能是因为盐度对对虾的诸多方面影响是长期的效应,短期内没有得到体现。

参考文献:

- [1] HE J G, DENG M, LONG Q X, et al. Theory and strategies for controlling white spot syndrome (WSS) of cultured *Penaeus monodon* in south China [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2000, 39 (suppl): 147 - 153.
- [2] HE J G, CHEN Y G, DENG M, et al. Nature host range and pathogenicity of white spot syndrome virus infection in shrimp and crab species in China [C] // PHILLIPS B, MEGRCY B A, ZHOU Y, eds. *Proceedings of the Third World Fisheries Congress: Feeding the World with Fish in the Millennium - the Balance Between Production and Environment*. American Fisheries Society Symposium, 2003, 38: 195 - 203.
- [3] LO C F, HO C H, CHEN C H, et al. Detection and tissue tropism of white spot syndrome baculovirus (WSBV) in capture brooders of *Penaeus monodon* with a special emphasis on reproductive organs [J]. *Dis Aquat Org*, 1997, 30: 53 - 72.
- [4] 包振民, 胡景杰, 姜明, 等. 杆状病毒感染越冬亲虾 (*Penaeus chinensis*) 的研究 - 越冬亲虾感染及其垂直传播的可能性 [J]. *青岛海洋大学学报*, 1997, 27 (3): 347 - 351.
- [5] PENG S E, LO C F, LIU K F, et al. The transition from pre-patent to patent infection of white spot syndrome virus (WSSV) in *Penaeus monodon* trigger by pereopod excision [J]. *Fish pathology*, 1998, 33 (4): 395 - 400.
- [6] 何建国, 周化民, 姚泊, 等. 白斑综合症杆状病毒宿主种类和感染途径 [J]. *中山大学学报: 自然科学版*, 1999, 38 (2): 65 - 69.
- [7] 江世贵, 何建国, 马之明, 等. 白斑综合症病毒对斑节对虾幼体和仔虾的致病性 [J]. *中山大学学报: 自然科学版*, 2000, 39 (S): 172 - 176.
- [8] 雷质文, 黄健, 史成银, 等. 白斑综合症病毒 (WSSV) 的宿主调查 [J]. *海洋与湖沼*, 2002, 33 (2): 250 - 258.
- [9] LO C F, HO C H, PENG S E, et al. White stop syndrome baculovirus (WSBV) detected in cultured and captured shrimp, crabs and other arthropods [J]. *Dis Aquat Org*, 1996, 27: 215 - 225.
- [10] 何建国, 莫福. 对虾白斑综合症病毒暴发流行与传播途径, 气候和水体理化因子的关系及基控制措施 [J]. *中国水产*, 1999, 7: 34 - 41.
- [11] 何建国, 邓敏, 龙紫新. 斑节对虾白斑综合症杆状病毒检测方法及其应用 [J]. *中山大学学报论丛*, 1996 (S): 6 - 11.
- [12] 简旭凤. 白斑综合症病毒 (WSSV) 原位 PCR 及定量 PCR 检测技术的建立 [D]. 广州: 中山大学生命科学学院, 2003.
- [13] 黄健, 蔡生力, 宋晓玲, 等. 对虾暴发性流行病原的人工感染研究 [J]. *海洋水产研究*, 1995, 16 (1): 51 - 58.
- [14] 江世贵, 何建国, 吕玲, 等. 白斑综合症病毒对斑节对虾亲虾的感染及垂直传播的初步研究 [J]. *中山大学学报: 自然科学版*, 2000, 39 (S): 164 - 171.
- [15] 李丹萍. pH 值对海水鱼虾养殖的影响 [J]. *科学养鱼*, 1998, 9: 40.
- [16] 李贵生, 何建国, 李桂峰, 等. 斑节对虾杆状病毒感染与水体理化因子 [J]. *中山大学学报论丛*, 1996 (S): 26 - 30.
- [17] 李贵生, 何建国, 李桂峰, 等. 斑节对虾杆状病毒感染度与水体理化因子关系模型的修订 [J]. *中山大学学报: 自然科学版*, 2001, 40 (6): 67 - 71.

(下转第 88 页)

- cancer and neurodegenerative diseases [J]. *Experimental Cell Research*, 2003, 283:51-66.
- [3] GOSWAMI A, QIU S, THOMAS S D, et al. Par-4 binds to topoisomerase I and attenuates its DNA relaxation activity [J]. *Cancer Research*, 2008, 68(15):6190-6198.
- [4] ZHAO Yanming, BURIKHANOV R, RANGNEKAR V M, et al. Cancer resistance in transgenic mice expressing the SAC module of Par-4 [J]. *Cancer Research*, 2007, 67(19):9276-9285.
- [5] GUO Yanzhi, YU Lezheng, WEN Zhining, et al. Using support vector machine combined with auto covariance to predict protein-protein interactions from protein sequences [J]. *Nucleic Acids Research*, 2008, 36(9):3025-3030.
- [6] SHEN Juwen, ZHANG Jian, LUO Xiaomin, et al. Prediction protein-protein interactions based only on sequences information [J]. *PNAS*, 2007, 104(11):4337-4341.
- [7] GURUMURTHY S, GOSWAMI A, VASUDEVAN K M, et al. Phosphorylation of Par-4 by protein kinase A is critical for apoptosis [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2005, 25(3):1146-1161.
- [8] GOSWAMI A, RANGANATHAN P, RANGNEKAR V M. The Phosphoinositide 3-Kinase/Akt1/Par-4 axis: A cancer-selective therapeutic target [J]. *Cancer Research*, 2006, 66:2889-2892.
- [9] 秦天洁, 马巍, 刘陕西, 等. Par-4 诱导细胞凋亡发生机制的进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2008, 16(12):2216-2219.
- [10] PARK S K, NGUYEN M D, FISCHER A, et al. Par-4 links dopamine signaling and depression [J]. *Cell*, 2005, 122:275-287.
- [11] LU Chao, CHEN Jieqing, ZHOU Guoping, et al. Multimolecular complex of Par-4 and E2F1 binding to Smac promoter contributes to glutamate-induced apoptosis in human-bone mesenchymal stem cells [J]. *Nucleic Acids Research*, 2008, 36(15):5021-5032.

(上接第82页)

- [18] SMART G R. Investigations of the toxic mechanisms of ammonia to fish - gas exchange in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed to acutely lethal concentrations [J]. *J Fish Biol*, 1978, 12(1):93-104.
- [19] WHITFIELD M. The hydrolysis of ammonium ions in sea water—a theoretical study [J]. *J Mar Biol Assoc U K*, 1974, 54(3):565-580.
- [20] ARMSTRONG D A, CHIPPENDALE D, KNIGHT A W, et al. Interaction of ionized and un-ionized ammonia of short-term survival and growth of prawn larvae *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Biol Bull*, 1978, 154:15-31.
- [21] SHARMA B, AHLERT R C. Nitrification and nitrogen removal [J]. *Water Res*, 1977, 11:879-925.
- [22] CHEN J C, CHIN T S. Acute toxicity of nitrite to tiger prawn *Penaeus monodon* larvae [J]. *Aquaculture*, 1988, 69(3/4):253-262.
- [23] 丁美丽, 林林, 李光友, 等. 有机污染对中国对虾体内外环境影响的研究 [J]. *海洋与湖沼*, 1997, 28(1):7-12.
- [24] 吴中华, 刘昌彬, 刘存仁, 等. 中国对虾慢性亚硝酸盐和氨中毒的组织病理学研究 [J]. *华中师范大学学报: 自然科学版*, 1999, 33(1):119-122.
- [25] BRAY W A, LAWRENCE A L, LEUNG D K, et al. The effect of salinity on growth and survival of with observations on the interaction of IHNV virus and salinity [J]. *Aquaculture*, 1994, 122:133-146.