

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20171115001

http://www.yykxjz.cn/

董丽君, 罗坤, 曹家旺, 陈宝龙, 栾生, 曹宝祥, 隋娟, 孟宪红. 凡纳滨对虾商业苗种抗 WSSV 性能比较. 渔业科学进展, 2019, 40(1): 69–75

Dong LJ, Luo K, Cao JW, Chen BL, Luan S, Cao BX, Sui J, Meng XH. Comparison of WSSV-resistant traits of different commercial larvae of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Progress in Fishery Sciences, 2019, 40(1): 69–75

## 凡纳滨对虾商业苗种抗 WSSV 性能比较\*

董丽君<sup>1,2,3</sup> 罗坤<sup>1,2</sup> 曹家旺<sup>1,2</sup> 陈宝龙<sup>1,2</sup>  
栾生<sup>1,2</sup> 曹宝祥<sup>1,2</sup> 隋娟<sup>1,2</sup> 孟宪红<sup>1,2①</sup>

1. 农业农村部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071;
2. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室 青岛 266071;
3. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306)

**摘要** 白斑综合征病毒(WSSV)一直是甲壳类生物的高致病性病原。为了解市场上不同凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)商业苗种病原携带情况及其抗 WSSV 性能,本研究收集了 6 个品牌的凡纳滨对虾商业苗种(分别简称为海南 Z、海南 S、广州 P、广州 Z、黄骅 R 和东营 M),先进行包括 WSSV 在内的 8 种病原的检测,然后,采用单尾定量口饲感染方式进行抗 WSSV 性能测试,并比较各组苗种感染 WSSV 后的平均存活时间、存活率以及累积死亡率的差异。结果显示,6 个商业苗种都不携带 WSSV,部分苗种检测有潜在虾肝肠胞虫(EHP)和偷死野田村病毒(CMVN)。各苗种感染 WSSV 后,平均存活时间从长到短依次为海南 Z、广州 P、黄骅 R、海南 S、广州 Z、东营 M。东营 M 感染 WSSV 后第 4 天达到死亡高峰,而海南 Z 在第 6~7 天到达死亡高峰,比东营 M 晚了 2~3 d。感染实验结束后,海南 Z 和广州 P 存活率最高,同为 72.5%,而东营 M 和黄骅 R 的存活率最低。本研究表明,海南 Z 和广州 P 抗 WSSV 性能最强,研究结果可为凡纳滨对虾抗病新品种的选育提供基础数据。

**关键词** 凡纳滨对虾; 商业苗种; 病原检测; 抗 WSSV 性状; 存活率

**中图分类号** S945.1 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2019)01-0069-07

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*),俗称南美白对虾,原产于太平洋西岸水域秘鲁北部至墨西哥桑诺拉一带,具有营养价值高、生长迅速、抗逆性强等优点。自 1988 年由中科院海洋所的张伟权教授从美国引进中国并突破人工繁育技术,1999 年从美国夏威夷海洋研究所引进 SPF(无特定病原)亲虾后,其养殖规模和养殖产量逐年扩大(张伟权,1990;王兴强等,

2004)。2016 年凡纳滨对虾海水养殖产量达 93 万 t,较 2015 年增长 2%,占我国对虾海水养殖总产量的 70%以上,成为我国对虾养殖产量最多的种类之一(农业部渔业渔政管理局,2017)。但由于种源受控于其原产地国,国内苗种质量参差不齐,且养殖环境恶化、各种疾病频发,极大地限制了凡纳滨对虾养殖业健康快速发展。1992 年,白斑综合征病毒(White spot

\* 中国水产科学研究院基本科研业务费(2016GH06)、国家自然科学基金(31372523)、泰山学者良种工程项目和现代农业产业技术体系专项资金(CARS-48)共同资助[This work was supported by Special Scientific Research Funds for Central Non-Profit Institutes, Chinese Academy of Fishery Sciences (2016GH06), National Natural Science Foundation of China (31372523), Taishan Scholar Program for Seed Industry, and China Agriculture Research System (CARS-48)].

董丽君, E-mail: 1515872195@qq.com

① 通讯作者: 孟宪红, 研究员, E-mail: mengxianhong@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2017-11-15, 收修改稿日期: 2018-01-05

syndrome virus, WSSV)在台湾地区首次发现,然后迅速遍布亚洲、欧洲等全球对虾养殖区域,迄今依然是影响对虾养殖业健康发展的主要因素(Hasson *et al.*, 2006; Nakano *et al.*, 1994)。WSSV 不仅具有高致死率,且感染宿主范围非常广,除感染凡纳滨对虾、中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)等甲壳类动物(闫冬春, 2007; 何培民等, 2016),还可以寄生在养殖池内的底栖桡足类动物、微藻和轮虫中,并以此为媒介进行传播,感染养殖动物(刘萍等, 2000; 戴俊逸等, 2013),大大增加了预防和控制白斑综合征的难度,极大限制了对虾养殖业的发展。

目前,我国进口凡纳滨对虾种源来自如夏威夷海洋研究所、美国迈阿密对虾改良系统公司(SIS)、正大、普利茂、科拿湾等 10 余家国外公司(邓涛等, 2013)。此外,我国科研工作者自主选育且经全国水产原种和良种审定委员会审定的凡纳滨对虾新品种有 7 个,分别是“科海 1 号”、“中科 1 号”、“中兴 1 号”、“桂海 1 号”、“壬海 1 号”、“广泰 1 号”和“海兴农 2 号”,也分别在国内市场上占有一定份额。但市场上各商业苗种质量参差不齐,如是否携带多种病原、抗 WSSV 性能及生长状况等也鲜见报道。

以市场上常见的 6 个品牌凡纳滨对虾商业苗种(分别简称为海南 Z、海南 S、广州 P、广州 Z、黄骅 R 和东营 M)为研究对象,其中的广州 P 以其抗病性强而著称(吕华当, 2016)。首先,对 WSSV、传染性皮下及造血组织坏死病毒(Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus, IHNV)、虾肝肠胞虫(*Enterocytozoon hepatopenaei*, EHP)、致急性肝胰腺坏死病副溶血弧菌(Acute hepatopancreatic necrosis disease causing-*Vibrio parahaemolyticus*, VP<sub>AHPND</sub>)、桃拉综合征病毒(Taura syndrome virus, TSV)、黄头病毒(Yellow head virus, YHV)、传染性肌肉坏死病毒(Infectious myonecrosis virus, IMNV)以及偷死野田村病毒(Covert mortality nodavirus, CMNV) 8 种病原进行检测,确定对虾体内是否携带病原及携带病原种类,从而排除各对虾苗种体内原有病原对实验结果的影响。然后,进行 WSSV 人工感染实验,评估凡纳滨对虾各商业苗种的抗 WSSV 性能。本研究可为凡纳滨对虾抗病品种选育提供基础信息。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

2016 年 8 月,本研究在中国水产科学院黄海水

产研究所对虾性状测试车间内进行。选购海南 Z、海南 S、广州 P、广州 Z、黄骅 R、东营 M 共 6 个品牌凡纳滨对虾商业苗种的 18 个家系为实验材料进行病原检测。同一来源苗种的不同家系混养后,随机选若干尾进行 WSSV 人工感染实验,其平均体重为(0.49±0.29) g。

### 1.2 病原检测

针对 6 种凡纳滨对虾商业苗种的 18 个家系,从每个家系随机取 15 尾虾混成 1 个样品。其中,WSSV、IHNV、TSV、YHV、IMNV 和 VP<sub>AHPND</sub> 6 种病原检测所用引物和检测方法参考《水生动物疾病诊断手册》(世界动物卫生组织, 2017),EHP 和 CMNV 则分别参照 Jaroenlak 等(2016)、刘珍等(2016)和 Zhang 等(2014)的方法,引物序列见表 1。TSV 检测方法为常规 PCR,而其他 7 种病原均利用巢式 PCR 检测。TSV、YHV、IMNV 及 CMNV 属于 RNA 病毒,进行病原检测前需反转录成 cDNA,再进行 PCR 检测(刘飞等, 2014)。

### 1.3 材料暂养

将 6 个商业苗种共计 717 个个体分别置于 81 cm×59 cm×51 cm 的整理箱中,不断充气,暂养 4 d,每个苗种设置 3 个平行组和 1 个对照组。每天早、中、晚各投喂 1 次人工配合饲料,投喂量为对虾体重的 3%~5%,排污换水各 1 次/天,换水量为 30%~50%。养殖用水为砂滤自然海水,盐度为 30±1,实验期间水温维持在(27±2)℃。

### 1.4 制备毒饵

取感染 WSSV 的濒死对虾的肌肉,放入组织匀浆机中打碎;利用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR)检测肌肉组织中的 WSSV 病毒拷贝数,测得病毒载量为 1×10<sup>7</sup> copies/ng。参照孟宪红等(2013)的方法制备毒饵,将制好的毒饵放入-80℃冰箱保存待用。

### 1.5 WSSV 感染

本研究采用单尾定量口饲感染 WSSV 的方法(冯亚萍等, 2017),感染前 2 h 不投喂,实验组每尾虾投喂约 10 mg 毒饵,观察其完全摄食后放回原整理箱。对照组正常投喂配合饲料,不感染 WSSV。感染结束后,每天正常投喂、吸污和换水并观察对虾死亡情况。从出现第 1 尾因感染 WSSV 死亡的个体开始,每隔 2 h 捞取死虾,并分别记录死亡时间和体重,直至第 10 天实验结束。

表 1 病原检测所用引物序列

Tab.1 Sequences of PCR primers for pathogen detection

| 引物名称<br>Primer name | 引物序列<br>Primer sequence (5'~3') | 引物名称<br>Primer name | 引物序列<br>Primer sequence (5'~3') |
|---------------------|---------------------------------|---------------------|---------------------------------|
| WSSV-F1             | ACTACTAACTTCAGCCTATCTAG         | AP4-F1              | ATGAGTAACAATATAAAACATGAAAC      |
| WSSV-R1             | TAATGCGGGTGTAAATGTTCTTACGA      | AP4-R1              | ACGATTTCGACGTTCCCCAA            |
| WSSV-F2             | GTAAGTCCCCTTCCATCTCCA           | AP4-F2              | TTGAGAATACGGGACGTGGG            |
| WSSV-R2             | TACGGCAGCTGCTGCACCTTGT          | AP4-R2              | GTTAGTCATGTGAGCACCTC            |
| IHHNV-389F          | CGGAACACAACCCGACTTTA            | YHV-GY1             | GACATCACTCCAGACAACATCTG         |
| IHHNV-389R          | GGCCAAGACCAAAATACGAA            | YHV-GY2             | CATCTGTCCAGAAGGCGTCTATGA        |
| IHHNV-309F          | TCCAACACTTAGTCAAAACCAA          | YHV-GY4             | GTGAAGTCCATGTGTGTGAGACG         |
| IHHNV-309R          | TGTCTGCTACGATGATTATCCA          | YHV-GY5             | GAGCTGGAATTCAGTGAGAGAACA        |
| EHP_1F              | TTGCAGAGTGTGTTAAGGGTTT          | YHV-Y3              | ACGCTCTGTGACAAGCATGAAGTT        |
| EHP_1R              | CACGATGTGCTTTGCAATTTTC          | YHV-G6              | GTAGTAGAGACGAGTGACACCTAT        |
| EHP_2F              | TTGGCGGCACAATTCTCAAACA          | IMNV 4587F          | CGACGCTGCTAACCATACAA            |
| EHP_2R              | GCTGTTTGTCTCCAAGTATTGTA         | IMNV 4914R          | ACTCGGCTGTTTCGATCAAGT           |
| TSV-9992F           | AAGTAGACAGCCGCGCTT              | IMNV 4725NF         | GGCACATGCTCAGAGACA              |
| TSV-9195R           | TCAATGAGAGCTTGGTCC              | IMNV 4863NR         | AGCGCTGAGTCCAGTCTTG             |
| SHIV-F              | GGGCGGGAGATGGTGTAGAT            | CMNV-Noda-F1        | AAATACGGCGATGACG                |
| SHIV-R              | TCGTTTCGGTACGAAGATGTA           | CMNV-Noda-R1        | ACGAAGTGCCACAGAC                |
| SHIV-NF             | CGGGAAACGATTTCGTATTGGG          | CMNV-Noda-F3        | CACAACCGAGTCAAACC               |
| SHIV-NR             | TTGCTTGATCGGCATCCTTGA           | CMNV-Noda-R3        | GCGTAAACAGCGAAGG                |

## 1.6 数据处理

利用 Excel 2007 和 Origin 9.0 统计凡纳滨对虾各商业苗种感染 WSSV 后的平均存活时间, 并做累积死亡率折线图。采用 SPSS 19.0 软件对平均存活时间做单因素方差分析(One-way ANOVA), 对有显著性差异的苗种再作 Tukey HSD 多重比较分析。

## 2 结果

### 2.1 病原检测

本研究对 6 个对虾商业苗种的 8 种病原检测结果见表 2。各品牌的商业苗种都不携带 WSSV、IHHNV、TSV、VP<sub>AHPND</sub>、YHV、IMNV 这 6 种病原, 但在黄骅 R、广州 Z 和海南 Z 的所有家系以及广州 P 的 F13、F14、F16 家系中均检测出 EHP, 东营 M、海南 S、黄骅 R 和广州 Z 的部分家系中检测出 CMNV。

### 2.2 存活时间比较

6 个品牌凡纳滨对虾商业苗种未感染 WSSV 的对照组存活率接近 100%, 感染 WSSV 的实验组存活时间如表 3 所示。东营 M 在感染 WSSV 后第 12 小时首先出现死亡个体, 广州 Z 和黄骅 R 在感染后第 22 小时开始死亡, 而海南 Z 在感染后第 68 小时才开始死亡, 比东营 M 整整晚了 56 h。比较各商业苗种感染

WSSV 后的平均存活时间发现, 海南 Z 平均存活时间最长(150.18±25.92) h, 其次是广州 P(122.32±43.59) h, 平均存活时间最短的是东营 M(71.70±23.79) h。6 个品牌凡纳滨对虾商业苗种感染 WSSV 后存活时间的差异显著性见表 4。海南 Z 显著高于其他 5 个苗种, 广州 P 显著低于海南 Z、但极显著高于其他 4 个苗种, 东营 M 极显著低于其他 5 个苗种, 广州 Z、海南 S、黄骅 R 三者间无显著差异( $P>0.05$ )。

### 2.3 累积死亡率和存活率比较

统计 6 个品牌凡纳滨对虾商业苗种感染 WSSV 后不同时间点的累积死亡率(图 1)。东营 M 从感染 WSSV 后第 1 天死亡率就急剧上升, 并在第 4 天到达死亡高峰, 直至第 6 天死亡速度开始减缓。海南 Z 在感染 WSSV 后前 4 d 死亡率一直维持在低水平, 直至第 6 天累积死亡率迅速增加, 第 6~7 天为死亡高峰期, 到第 8 天时, 累积死亡率基本不变, 死亡速度减缓。海南 Z 感染 WSSV 后的死亡高峰期比东营 M 晚了 2~3 d。感染 WSSV 后的第 5 天, 海南 Z、海南 S、广州 P、广州 Z、黄骅 R、东营 M 累积死亡率分别为 1.7%、23.9%、11.8%、25.6%、46.0%和 57.7%, 第 10 天(实验结束)的累积死亡率依次为 27.5%、31.6%、27.5%、30.8%、61.3%和 60.4%。实验结束后, 海南 Z、海南 S、广州 P、广州 Z、黄骅 R、东营 M 的存

表2 凡纳滨对虾病原检测结果  
Tab.2 Results of pathogen detection of *L. vannamei*

| 苗种<br>Seedling of shrimp | 家系<br>Family | WSSV | IHHNV | EHP | VP <sub>AHPND</sub> | TSV | YHV | IMNV | CMNV |
|--------------------------|--------------|------|-------|-----|---------------------|-----|-----|------|------|
| 东营 M Dongying M          | F1           | -    | -     | -   | -                   | -   | -   | -    | +    |
|                          | F2           | -    | -     | -   | -                   | -   | -   | -    | +    |
|                          | F3           | -    | -     | -   | -                   | -   | -   | -    | +    |
|                          | F4           | -    | -     | -   | -                   | -   | -   | -    | -    |
| 黄骅 R Huanghua R          | F5           | -    | -     | +   | -                   | -   | -   | -    | +    |
|                          | F6           | -    | -     | +   | -                   | -   | -   | -    | -    |
| 广州 Z Guangzhou Z         | F7           | -    | -     | +   | -                   | -   | -   | -    | +    |
|                          | F8           | -    | -     | +   | -                   | -   | -   | -    | -    |
|                          | F9           | -    | -     | ±   | -                   | -   | -   | -    | -    |
|                          | F10          | -    | -     | +   | -                   | -   | -   | -    | -    |
|                          | F11          | -    | -     | +   | -                   | -   | -   | -    | -    |
| 广州 P Guangzhou P         | F12          | -    | -     | -   | -                   | -   | -   | -    | -    |
|                          | F13          | -    | -     | ±   | -                   | -   | -   | -    | -    |
|                          | F14          | -    | -     | +   | -                   | -   | -   | -    | -    |
|                          | F15          | -    | -     | -   | -                   | -   | -   | -    | -    |
|                          | F16          | -    | -     | ±   | -                   | -   | -   | -    | -    |
| 海南 S Hainan S            | F17          | -    | -     | -   | -                   | -   | -   | -    | +    |
| 海南 Z Hainan Z            | F18          | -    | -     | +   | -                   | -   | -   | -    | -    |

“-”为没有检出该病原，“+”为检测出该病原，“±”为第一轮 PCR 未检出该病原，第二轮检出该病原

“-”: No detection of the pathogen, “+”: Detection of the pathogen, “±”: The first PCR did not detect the pathogen, the second PCR detected the pathogen

表3 凡纳滨对虾感染 WSSV 后的存活时间  
Tab.3 Survival time of *L. vannamei* after infected by WSSV

| 苗种<br>Seedling of shrimp           | 海南 Z<br>Hainan Z          | 海南 S<br>Hainan S         | 广州 P<br>Guangzhou P       | 广州 Z<br>Guangzhou Z      | 黄骅 R<br>Huanghua R        | 东营 M<br>Dongying M       |
|------------------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| 最小存活时间(h)<br>Minimum survival time | 68                        | 46                       | 31                        | 22                       | 22                        | 12                       |
| 平均存活时间(h)<br>Mean survival time    | 150.18±25.92 <sup>a</sup> | 99.51±28.04 <sup>c</sup> | 122.32±43.59 <sup>b</sup> | 93.50±34.77 <sup>c</sup> | 100.99±26.84 <sup>c</sup> | 71.70±23.79 <sup>d</sup> |
| 平均体重(g)<br>Mean weight             | 0.60±0.29                 | 0.39±0.17                | 0.42±0.21                 | 0.40±0.19                | 0.40±0.16                 | 0.69±0.40                |
| 尾数 Number                          | 40×3                      | 39×3                     | 34×3                      | 39×3                     | 50×3                      | 37×3                     |

注: 不同的字母表示组间显著性差异( $P<0.05$ )

Note: Different letters showed significant difference between groups ( $P<0.05$ )

表4 凡纳滨对虾存活时间的差异显著性  
Tab.4 Significant differences on survival time of *L. vannamei*

|                  | 广州 Z<br>Guangzhou Z | 海南 S<br>Hainan S | 广州 P<br>Guangzhou P | 黄骅 R<br>Huanghua R | 东营 M<br>Dongying M | 海南 Z<br>Hainan Z |
|------------------|---------------------|------------------|---------------------|--------------------|--------------------|------------------|
| 广州 Z Guangzhou Z | 1.000               | 0.952            | 0.002**             | 0.785              | 0.005**            | 0**              |
| 海南 S Hainan S    |                     | 1.000            | 0.025*              | 0.796              | 0**                | 0**              |
| 广州 P Guangzhou P |                     |                  | 1.000               | 0.001**            | 0**                | 0**              |
| 黄骅 R Huanghua R  |                     |                  |                     | 1.000              | 0**                | 0**              |
| 东营 M Dongying M  |                     |                  |                     |                    | 1.000              | 0**              |
| 海南 Z Hainan Z    |                     |                  |                     |                    |                    | 1.000            |

\*\*为差异极显著, \*为差异显著

\*\* showed highly significant difference, \* showed significant difference

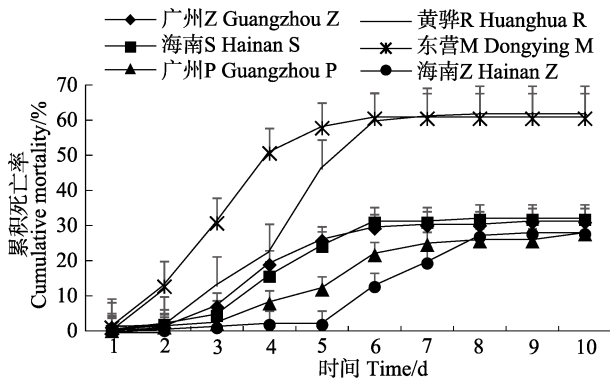


图 1 凡纳滨对虾感染 WSSV 后累积死亡率

Fig.1 Cumulative mortality of *L. vannamei* after infected by WSSV

活率分别为 72.5%、68.4%、72.5%、69.2%、38.7% 和 39.6%。其中, 广州 P 和海南 Z 的存活率最高, 黄骅 R 和东营 M 存活率最低。

### 3 讨论

本研究利用巢式 PCR 与普通 PCR 相结合的方法, 对世界动物卫生组织(OIE)指定的 8 种病原进行检测。结果显示, 6 个商业苗种都不携带 WSSV, 从而确保了抗 WSSV 性状测试结果的可信度。但除东营 M 外, 其他 5 个来源苗种的 EHP 均检测为阳性。EHP 能够限制对虾的生长速度, 导致对虾大小参差不齐, 养殖中可通过控制养殖密度和盐度来抵御该病原体(Tang *et al.*, 2015; 刘雅梅等, 2017)。在东营 M、黄骅 R、广州 Z、海南 S 的部分家系中检测到 CMNV。CMNV 是一种可引发对虾“偷死病”的病原, 其潜伏周期长且发病缓慢。发病前期对虾仅有少量死亡, 无明显症状, 后期死亡数量随养殖时间缓慢增多, 所以, 在养殖过程中要时刻注意及时捞取死虾避免污染水质(Pooljun *et al.*, 2016)。虽然, 6 个苗种的部分家系中检测出 EHP 和 CMNV, 但根据对照组的死亡情况推测, 它们仍处于潜伏期不会影响 WSSV 感染实验结果(Zhang *et al.*, 2017)。目前, 由于养殖环境恶化, 水体有害病原种类繁多, 对虾发病不再是由单一病原引起, 导致疾病防治更加困难(黄志坚等, 2016)。故选育抗病性强的对虾新品种, 是防治有害病原蔓延和减少养殖户经济损失的有效办法之一。

自 1993 年对虾养殖业遭受 WSSV 暴发性流行侵袭以来, 很多科研团队陆续开展了对虾抗 WSSV 家系选育工作。孔杰等(2012)以生长速度、抗 WSSV 能力和养殖存活率为目标性状, 选育的中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)新品种“黄海 2 号”已于 2009 年通过全国水产原良种委员会审定。美国

PRIMO 公司(2016)培育的高抗病凡纳滨对虾苗“普利茂”, 于 2015 年进入中国市场, 目前市场反响良好。黄永春等(2013)发现, 经过连续多代凡纳滨对虾抗 WSSV 家系选育, 对虾抗病性状逐代增强, 这充分证明了家系选育的可行性。王成桂等(2015)综合分析了 5 个抗 WSSV 家系的生长、耐盐、耐氨氮、亚硝酸盐以及抗 WSSV 性状的差异, 并筛选出综合性状比较突出的家系作为以后抗 WSSV 家系选择的基础群体。本研究则在已有研究成果的基础上, 设计实验筛选抗 WSSV 性能好的凡纳滨对虾商业苗种, 为凡纳滨对虾抗病选育提供基础数据。

目前, 国内市场上的对虾商业苗种质量良莠不齐, 因此, 对新苗种进行性能测定与评估具有重要意义。柴展等(2015)评估了 8 个中国的凡纳滨对虾群体家系间出肉率的差异, 魏琳等(2016)比较了在低氧条件下 2 个凡纳滨对虾品系的线粒体超微结构, Li 等(2015)对凡纳滨对虾各家系的耐低温性状遗传参数进行了评估。本研究通过对 6 种凡纳滨对虾商业苗种喂食相同剂量( $1 \times 10^7$  copies/ng)的 WSSV, 并比较分析其感染 WSSV 后的平均存活时间和累积死亡率, 来评估 6 个凡纳滨对虾商业苗种的抗 WSSV 性能。结果显示, 海南 Z 和广州 P 的 WSSV 抗性在 6 个苗种中最强。其中, 广州 P 是经过多年抗病选育出来的新苗种, 与吕华当(2016)的研究结果是一致的。抗性选择育种是一个复杂的工程, 本研究仅对 6 个商业苗种的某一子代进行选育, 只能为进一步开展凡纳滨对虾抗病品种选育提供基础数据。培育抗病新品种还需要进一步深入开展多代选育, 并了解其遗传背景及综合评估与生长、繁殖等性状的相关性。

### 参 考 文 献

- Bureau of Fisheries and Fisheries Law Enforcement, Ministry of Agriculture. China fishery statistical yearbook 2017. Beijing: China Agriculture Press, 2017 [农业部渔业渔政管理局. 2017 年中国渔业统计年鉴. 北京: 中国农业出版社, 2017]
- Chai Z, Luan S, Luo K, *et al.* Correlation analysis of fillet yield with phenotypic traits for families from conservation population of *Litopenaeus vannamei*. Progress in Fishery Sciences, 2015, 36(6): 63-70 [柴展, 栾生, 罗坤, 等. 基于家系水平的凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)保种群体出肉率与表型性状的相关性分析. 渔业科学进展, 2015, 36(6): 63-70]
- Dai JY, Li WT, Yang F. Studies on the invasion routes of white spot syndrome virus (WSSV) into shrimp and virus titer. Journal of Applied Oceanography, 2013, 32(1): 67-72 [戴俊逸, 李文婷, 杨丰. 白斑综合症病毒(WSSV)感染对虾的途径及滴度研究. 应用海洋学学报, 2013, 32(1): 67-72]
- Deng T, Huang TS, Zhang ZD. Current situation and counter-

- measure of *Penaeus vannamei* seed industry in China. *China Fisheries*, 2013(12): 22–25 [邓涛, 黄太寿, 张振东. 我国南美白对虾种业发展现状及对策建议. *中国水产*, 2013(12): 22–25]
- Feng YP, Kong J, Luo K, *et al.* The comparison of the sensitivity to the white spot syndrome virus between *Fenneropenaeus chinensis* and *Litopenaeus vannamei*. *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(6): 78–84 [冯亚萍, 孔杰, 罗坤, 等. 中国对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 和凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 对白斑综合征病毒的敏感性比较. *渔业科学进展*, 2017, 38(6): 78–84]
- Hasson KW, Fan Y, Reisinger T, *et al.* White spot syndrome virus (WSSV) introduction into the Gulf of Mexico and Texas freshwater systems through imported, frozen bait-shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2006, 71(2): 91–100
- He PM, Guo YY, Jia XH, *et al.* Research advance of immunology prevention of shrimp white spot syndrome virus. *Marine and Fisheries*, 2016, 38(4): 437–448 [何培民, 郭媛媛, 贾晓会, 等. 对虾白斑综合征病毒免疫防治研究进展. *海洋渔业*, 2016, 38(4): 437–448]
- Huang YC, Ai HS, Pan ZC, *et al.* Establishment and WSSV resistant characteristics of selective breeding families for resistance to the white spot syndrome virus of *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(3): 359–366 [黄永春, 艾华水, 潘忠诚, 等. 凡纳滨对虾抗 WSSV 选育家系的建立及其抗病特性. *水产学报*, 2013, 37(3): 359–366]
- Huang ZJ, Chen YG, Wong SP, *et al.* Multiple bacteria species were involved in hepatopancreas necrosis syndrome (HPNS) of *Litopenaeus vannamei*. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2016, 55(1): 1–11 [黄志坚, 陈勇贵, 翁少萍, 等. 多种细菌与凡纳滨对虾肝胰腺坏死症 (HPNS) 爆发有关. *中山大学学报(自然科学版)*, 2016, 55(1): 1–11]
- Jaroenlak P, Sanguanrut P, Williams BAP, *et al.* A nested PCR assay to avoid false positive detection of the microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in environmental samples in shrimp farms. *PLoS One*, 2016, 11(11): e0166320
- Kong J, Luo K, Luan S, *et al.* The new variety of *Fenneropenaeus chinensis* “Huanghai No.2”. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(12): 1854–1862 [孔杰, 罗坤, 栾生, 等. 中国对虾新品种“黄海 2 号”的培育. *水产学报*, 2012, 36(12): 1854–1862]
- Li WJ, Luan S, Luo K, *et al.* Genetic parameters and genotype by environment interaction for cold tolerance, body weight and survival of the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* at different temperatures. *Aquaculture*, 2015, 441: 8–15
- Liu F, Zhang BC, Zhang XH, *et al.* Multiplex PCR assay for simultaneous detection of six viruses in shrimp. *Progress in Fishery Sciences*, 2014, 35(1): 60–67 [刘飞, 张宝存, 张晓华, 等. 对虾 6 种病毒多重 PCR 检测方法的建立. *渔业科学进展*, 2014, 35(1): 60–67]
- Liu P, Kong J, Meng XH, *et al.* Investigation of the transmission route during the artificial culture of shrimps with the white spot syndrome virus. *Marine Fisheries Research*, 2000, 21(3): 9–12 [刘萍, 孔杰, 孟宪红, 等. 白斑综合症病毒 (WSSV) 在对虾养殖过程中传播途径的调查. *海洋水产研究*, 2000, 21(3): 9–12]
- Liu YM, Qiu L, Cheng DY, *et al.* The relationship of body length and weight in the *Litopenaeus vannamei* populations detected *Enterocytozoon hepatopenaei*. *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(4): 96–103 [刘雅梅, 邱亮, 程道远, 等. 检出虾肝肠胞虫 (*Enterocytozoon hepatopenaei*) 的凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 群体的体长和体重关系. *渔业科学进展*, 2017, 38(4): 96–103]
- Liu Z, Zhang QL, Wan XY, *et al.* Development of real-time PCR assay for detecting microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* and the application in shrimp samples with different growth rates. *Progress in Fishery Sciences*, 2016, 37(2): 119–126 [刘珍, 张庆利, 万晓媛, 等. 虾肝肠胞虫 (*Enterocytozoon hepatopenaei*) 实时荧光定量 PCR 检测方法的建立及对虾样品的检测. *渔业科学进展*, 2016, 37(2): 119–126]
- Lü HD. High resistant Purimo shrimp landed Zhanjiang. *Ocean Fishery*, 2016(1): 35–36 [吕华当. 高抗病普瑞莫亲虾落地湛江. *海洋与渔业*, 2016(1): 35–36]
- Meng XH, Zhang TS, Kong J, *et al.* Quantitative and qualitative test methods for the ability of prawns against white spot syndrome virus. China: CN201210107377.8, 2012-09-12 [孟宪红, 张天时, 孔杰, 等. 对虾抗白斑综合症病毒能力的等量、定量测试方法. 中国: CN201210107377.8, 2012-09-12]
- Nakano H, Koube H, Umezawa S, *et al.* Mass mortalities of cultures kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*, in Japan in 1993: Epizootiological survey and infection trials. *Fish Pathology*, 1994, 29(2): 135–139
- OIE. Manual of diagnostic tests for aquatic animals. Beijing: China Agriculture Press, 2017 [世界动物卫生组织. 水生动物疾病诊断手册. 北京: 中国农业出版社, 2017]
- Penaeus vannamei* “Primo”. *Ocean and Fishery*, 2016(2): 41 [普瑞莫南美白对虾. *海洋与渔业*, 2016(2): 41]
- Pooljun C, Direkbusarakom S, Chotipuntu P, *et al.* Development of a TaqMan real-time RT-PCR assay for detection of covert mortality nodavirus (CMNV) in penaeid shrimp. *Aquaculture*, 2016, 464(1): 445–450
- Tang KF, Pantoja CR, Redman RM, *et al.* Development of in situ hybridization and PCR assays for the detection of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP), a microsporidian parasite infecting penaeid shrimp. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2015, 130: 37–41
- Wang CG, Yang SP, Cai ZF, *et al.* The compare of genetic characters of five *Litopenaeus vannamei* anit WSSV families. *Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science)*, 2015, 34(3): 227–232 [王成桂, 杨世平, 蔡志方, 等. 5 个凡纳滨对虾抗 WSSV 家系遗传性状的比较. *浙江海洋学院学报(自然科学版)*, 2015, 34(3): 227–232]
- Wang XQ, Ma S, Dong SL. Studies on the biology and cultural ecology of *Litopenaeus vannamei*: A review. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2004(4): 94–100 [王兴强, 马牲, 董双林. 凡纳滨对虾生物学及养殖生态学研究进展. *海洋湖沼通报*, 2004(4): 94–100]

- Wei L, Qiu LG, Li YH, *et al.* Comparison of the mitochondrial ultrastructure between two varieties of the shrimp *Litopenaeus vannamei* under hypoxia stress. *Journal of Tropical Biology*, 2016, 7(1): 17–22 [魏琳, 邱立国, 李玉虎, 等. 低氧胁迫下不同品种凡纳滨对虾线粒体超微结构的比较. *热带生物学报*, 2016, 7(1): 17–22]
- Yan DC. Review on shrimp white spot syndrome virus (WSSV) hosts. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2007(1): 136–140 [闫冬春. 对虾白斑综合征病毒(WSSV)宿主研究进展. *海洋湖沼通报*, 2007(1): 136–140]
- Zhang QL, Liu Q, Liu S, *et al.* A new nodavirus is associated with covert mortality disease of shrimp. *Journal of General Virology*, 2014, 95(12): 2700–2709
- Zhang QL, Xu TT, Wan XY, *et al.* Prevalence and distribution of covert mortality nodavirus (CMNV) in cultured crustacean. *Virus Research*, 2017, 233: 113–119
- Zhang WQ. A brief introduction to the biology of *Penaeus vannamei* in the world. *Marine Sciences*, 1990(3): 69–73 [张伟权. 世界重要养殖品种—南美白对虾生物学简介. *海洋科学*, 1990(3): 69–73]

(编辑 马璀艳)

## Comparison of WSSV-Resistant Traits of Different Commercial Larvae of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei*

DONG Lijun<sup>1,2,3</sup>, LUO Kun<sup>1,2</sup>, CAO Jiawang<sup>1,2</sup>, CHEN Baolong<sup>1,2</sup>, LUAN Sheng<sup>1,2</sup>,  
CAO Baoxiang<sup>1,2</sup>, SUI Juan<sup>1,2</sup>, MENG Xianhong<sup>1,2①</sup>

(1. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071; 2. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266071; 3. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

**Abstract** The white spot syndrome virus (WSSV) is a highly virulent pathogen in crustaceans. The purpose of this study was to compare the WSSV-resistant traits of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* from different commercial brands. After detecting the infection status of eight different pathogens, including WSSV, infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV), taura syndrome virus (TSV), acute hepatopancreatic necrosis disease causing-*Vibrio parahaemolyticus* (VP<sub>AHPND</sub>), Yellow head virus (YHV), infectious myonecrosis virus (IMNV), *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP), and covert mortality nodavirus (CMNV), a quantitative feeding method to conduct a WSSV infection experiment on six commercial brands of juvenile *L. vannamei* (named Hainan Z, Hainan S, Guangzhou P, Guangzhou Z, Huanghua R, and Dongying M in the present study). The WSSV-resistant traits of each commercial brand were evaluated using the average survival time, survival rate, and cumulative mortality after infection. The results showed that no WSSV was found in shrimp of the six commercial brands, whereas some individuals were positive for EHP and CMNV. The average survival time for Hainan Z, Hainan S, Guangzhou P, Guangzhou Z, Huanghua R, and Dongying M was (150.18±25.92) h, (99.51±28.04) h, (122.32±43.59) h, (93.50±34.77) h, (100.99±26.84) h, and (71.70±23.79) h, respectively. The average survival time of Hainan Z was significantly higher than that of the other five brands. The average survival time of Guangzhou P was lower than that of Hainan Z, and was significantly higher than that of Dongying M, Guangzhou Z, Hainan S, and Huanghua R. Dongying M had a significantly lower survival time than that of the other five brands. There was no significant difference between Guangzhou Z, Hainan S, and Huanghua R ( $P>0.05$ ). The mortality peak for Hainan Z started on the 6th day and continued to the 7th day; whereas that of Dongying M was on the 4th day. The mortality peak for Hainan Z was 2 to 3 d later than that of Dongying M. At the end of the infection experiment, the survival rate of Hainan Z and Guangzhou P was the highest and was 72.5%. The survival rates for Dongying M and Huanghua R were the lowest, at 39.6% and 38.7%, respectively. The results suggested that Hainan Z and Guangzhou P have the strongest resistance against WSSV. The results could provide basic data for the selective breeding of *L. vannamei*.

**Key words** Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*; Commercial larvae; Pathogen detection; WSSV-resistant traits; Survival rate

① Corresponding author: MENG Xianhong, E-mail: mengxianhong@ysfri.ac.cn