

文章编号:1004-7271(2004)01-0060-07

·综述·

水产动物疾病控制的研究和进展

Progress on research of disease control of aquatic animals

黄艳平¹, 杨先乐¹, 湛嘉¹, 吴小兰²

(1. 上海水产大学农业部渔业动植物病原库, 上海 200090;

2. 浙江省杭州市农业局, 杭州 310002)

HUANG Yan-ping¹, YANG Xian-le¹, ZHAN Jia¹, WU Xiao-lan²

(1. Fisheries Pathogen Collection, Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China;

2. Zhejiang Province Hangzhou Agriculture Bureau, Hangzhou 310002, China)

关键词 水产动物 疾病 控制

Key words aquatic animal disease control

中图分类号 S941 文献标识码: A

近二十年来,我国的水产养殖业得到了飞速发展,养殖产量成倍增长。2001年,我国全年水产品养殖产量达2720万吨,占我国水产品总量的62%,占世界水产养殖总量的三分之二以上,我国已成为世界上唯一的养殖产量超过捕捞产量的渔业大国。水产养殖已成为我国渔业发展的重点,是我国大农业中发展较快、活力较强、经济效益较高的产业之一。伴随着我国水产养殖业的迅猛发展,各类水产病害亦迅猛增长,据不完全统计,目前水产养殖病害在300种以上,每年约有1/10的养殖面积发生病害,年损失产量占养殖总产量的15%~30%,经济损失高达数百亿元,水产动物病害已成为影响我国水产养殖业发展的主要制约因素。通过对水产动物疾病的最新研究和进展的简单综述,为有关科技和管理人员、业者提供一定参考。

1 新病原的发现

由于水产养殖生产的发展,养殖对象的不断扩大,养殖密度的不断增加,苗种、成体以及亲本在地区间流动频繁,水产动物疾病的传播日益加剧,死亡率明显增加。据统计,1996年韩国水产动物死亡率为8.2%,到2000年,死亡率增加至11.8%^[1],与此同时疾病也越来越复杂,不仅表现为疾病危害程度大大增强,而且新的疾病不断出现,病毒病、细菌病、寄生虫病等出现频率大幅增长。2001年8月,在科威特首次暴发了由无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*)引起的牡蛎(*Liza klunzingeri*)死亡,死亡率高达90%^[2]。在伊朗寄生虫病日益猖獗,危害极为严重,对242种虾进行检测,发现全部感染寄生虫,其中病原主要是聚缩虫属(*Zoothamnium* sp.)、其次为累枝虫属(*Epistylis* sp.)、车轮虫属(*Trichodina* sp.)、钟形虫

收稿日期 2003-02-25

基金项目 农业部渔业重点科研项目(渔95-B-00-01)

作者简介:黄艳平(1979-),女,湖南长沙人,上海水产大学2003届硕士研究生,专业方向为水产动物医学。E-mail:hxjdragon@sohu.com

通讯作者:杨先乐(1948-),男,湖南桃源人,教授,博士生导师,主要从事水产动物医学的研究。Tel:021-65710870, E-mail:xyang@shfu.edu.cn

属(*Vorticella* sp.)。在亲本中,还首次发现了 *Thynnascaris*、*Scolex pheuronectis*、*Wuterarhynchus* 和 *Prochristianella penaei* 属的寄生虫^[3]。表 1、表 2 列举了近几年新发现的一些病毒和寄生虫病原。

表 1 近年新发现的水生动物病毒

Tab.1 The newly appeared viral disease in recent years

名称	病毒核酸类型	宿主	特征
鳊鱼病毒 (<i>Siniperca chuatsi</i> virus, SCV)	dsDNA	鳊鱼脾脏	六面体,直径 150nm,分子量 $1.45 \times 107\text{Da}$,其中 369bp 和 450bp 两个片段可作为诊断依据 ^[4] 。
条石鲷虹彩病毒 (<i>Japanese parrotfish</i> iridovirus, JPIV)	DNA 病毒	条石鲷 (<i>Oplegnatus</i> <i>fasciatus</i>)	二十面体,直径约 120 ~ 130nm,其 ATP 酶和 DNA 聚合酶的 cDNA 基因与 RSIV 的同源性达 95% 和 96% ^[5] 。
罗氏沼虾病毒 (<i>M. rosenbergii</i> Nodavirus, MrNV)	RNA 病毒	罗氏沼虾 后期幼体	二十面体,包含涵体,无包膜颗粒,直径为 26 ~ 27nm。在氯化铯中密度为 1.27 ~ 1.28g/mL,这一病毒为 Nodaviridae 病毒科的一新病毒,经 RNA 序列表明,它与 α 和 β 型 <i>davirus</i> 不同。该病毒的囊膜主要包含一个 43kDa 的多肽,此外银染发现还有 6 个小的多肽,基因组包含两个线形 ssRNA,分子量为 1.26 和 2.90kb ^[6] 。
虎纹蛙病毒 (<i>tiger frog</i> virus, TFV)	DNA 病毒	虎纹蛙 (<i>Rana tigrina</i> <i>rugulosa</i>)	双链 DNA,105057 个碱基,G + C 含量为 55.01%,在 40 ~ 1294 个氨基酸位置有 105 个开放区。该病毒存在于肝细胞细胞质中,二十面体,有囊膜,直径 156nm,六边核衣壳无囊膜,直径 130nm。该病毒与 FV3,LCDDV1 和 ISKNV 的同源性分别为 93%、49%、45.7% ^[7] 。
大黄鱼虹彩病毒 (<i>Pseudosciaena Crocea</i> iridovirus, PCIV)	DNA 病毒	大黄鱼	该病毒六边形,大量存在于胞浆中,成熟个体直径达 130 ~ 150nm,成典型的质晶体排列,从病毒 ATP 酶基因 DNA 中扩增出的一段 294bp 的序列高度保守,可用于 PCR 快速检测 ^[8] 。

表 2 近年新发现的水生动物寄生虫

Tab.2 Some newly appeared parasites in recent years

寄生虫名称	宿主	寄生虫名称	宿主
多子小瓜虫 <i>Ichthyophthirius multihirius</i>	淡水鱼类 ^[9]	多态锚头蚤 <i>Lernaea cyprinacea</i>	
草鱼肠袋虫 <i>Balantidium ctenopharyngodoni</i>	草鱼 ^[9]	草鱼锚头蚤	养殖鱼的皮肤、鳍、 肛门和眼眶 ^[10]
碘泡虫 <i>Myxobolus patlorskii</i>	白鲢 ^[9]	狗鱼锚头蚤 <i>L. esoci</i>	
法螺碘泡虫 <i>Myxobolus Pfeifferi</i>	鲫鱼 ^[9]	拟马颈颚虱 <i>Pseudotrachealiastes stellatus</i>	各种鱼的皮肤、鳃和鼻孔 ^[10]
结肠碘泡虫 <i>Myxobolus nodulointestinalis</i>	鲫鱼 ^[9]	普通马颈颚虱 <i>Trachealiastes polycolpus</i>	皮肤、鳍条 ^[10]
球碘泡虫 <i>Myxobolus bulbocordis</i>	鲫鱼 ^[9]	<i>Conchodytes meleagunae</i>	珍珠牡蛎 ^[10]
<i>Goussia sinensis</i>	白鲢 ^[9]	<i>Epipenaeon ingens</i>	短沟对虾鳃 ^[10]
<i>Goussia carpeli</i>	鲤鱼 ^[9]	藤壶属 <i>Balanus</i> sp.	印度白虾头胸甲 ^[10]
等足类甲壳动物 Isopod	横带次鲷 ^[9]	茗荷属 <i>Lepas</i> sp.	蟹鳃 ^[10]
叶形鲺 <i>Argulus foliaceus</i>	各种鱼皮肤 ^[9]	疮痂鱼虱 <i>Lepeophtheirus</i>	进口鱼鳃、口皮肤 ^[10]
狭腹鲺 <i>Lamproglan pulchella</i>	鲈鱼的鳃 ^[9]	颚虱 <i>Lernaocera</i>	

2 病原特性及分子生物学

目前,白斑综合征病毒(white spot syndrome virus, WSSV)、桃拉综合症病毒(taura syndrome virus, TSV)

及传染性脾、肾坏死病毒(infectious spleen and kidney necrosis virus, ISKNV)等是水产养殖尤其是虾类养殖中最为常见的几种病毒,每年因这几种病原导致的损失高达几亿元。随着分子生物学技术的发展,病毒的研究已从简单的形态分析进入分子水平,通过序列及其同源性分析,我们已知由南到北造成白斑综合征的病毒只有一种即 WSSV,而 TSV 则因 VR₁ 位点的变化而呈增多趋势。

WSSV、TSV 功能性蛋白的发现使病毒性病原的快速检测进入一个高速发展的时代,主要体现在以下三方面:①检测方法呈现多元化,除常见的聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)方法外,拓展了核酸探针和分子杂交检测法、间接抗体反应体测法、荧光抗体法、酶联免疫法、抗脂多糖血浆间接酶联免疫法、单抗与酶联免疫及荧光抗体相结合检测法等^[11]。新方法探索的同时老方法不断改进,常规 PCR 即发展了许多衍生技术,如原位 PCR、套式 PCR、实时 PCR(real-time PCR)、荧光定量 PCR 和生物芯片分析系统等。套式 PCR 灵敏度是一步 PCR 的 10⁴ 倍,可在口服感染 WSSV 3.5h 后检测出它的存在,检测时间比一步 PCR 提前 17h 以上,荧光定量 PCR 增加了一条荧光标记探针,通过微量荧光检测器可测出病原的 DNA 含量,有助于精确判断感染与否及感染的程度,real-time PCR 方法可实现正确的定量,同时降低污染^[12];生物芯片分析系统可同时检测几种病毒,在 SPF 的生产中有较大应用前景。②检测种类日趋增多。至今已可快速检测 WSSV、TSV、IHHNV、YHV、ISKNV、斑点叉尾鮰疱疹病毒、鲟科鱼类虹彩病毒等十几种病毒,另外对细菌及寄生虫的检测也已进入里程。③检测速度及灵敏度增强。目前 PCR 检测 WSSV 和对虾皮下及造血组织坏死病毒(infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus, IHHNV)仅需 3~4h,检测 TSV 仅需 4~6h^[13]。对 WSSV 的检测可精确至 5fgWSSV-DNA(相当于 20 个病毒),对黄头杆状病毒(yellow head virus, YHV)的检测可精确至 1fgYHV-RNA(相当于 40 个病毒)^[14]。

其它病原如细菌、立克次氏体、寄生虫等的研究也已进入分子生物学水平。表 3 描述了几种常见病原的特性。

表 3 常见病原特性研究简表

Tab.3 The characteristics of some pathogen

病原类型	病原名称	病原特征
病毒	白斑综合征病毒(WSSV)	双层囊膜, DNA 共 305107bp ^[15] , 是目前为止最大的病毒, 最独立的特征是有完好的胶原基因 ^[16] 。病毒具有 13 个功能性蛋白 ^[17] , DNA 降解序列有 4.6、4.8 和 8.1kb。
	桃拉综合征病毒(TSV)	无囊膜、二十面体, 小 RNA 病毒科(Picomaviridae), 为线性正链的 RNA 单链, 长度约 10.2kb, 直径 31~32nm, 在 CsCl ₂ 中的浮力密度为 1.338g/ml。TSV 位于细胞质中, 具有蛋白质衣壳, 其主要的功能性多肽位于衣壳蛋白的第二个开放式阅读框, 分别命名为 VP ₁ 、VP ₂ 、VP ₃ , 分子量分别为 55、40 和 24kDa, 另外, 还有一个 58kDa 的次要多肽。
	传染性脾、肾坏死病毒(ISKNV)	属虹彩病毒, 在开放阅读区 ORF 中有一段 684bp 大小的蛋白(分子量 25833Da)能编码 228 个氨基酸, 同时含有胞嘧啶转移酶的四个高度保守序列, 能降解以胞嘧啶 DNA 甲基转移酶为特征的氨基酸序列 ^[18] 。
立克次氏体	立克次氏体 RLO	具有两种细胞形态, 一种较大(960.6 ± 275.5 × 823.0 ± 222.7nm), 一种较小(251.6 ± 101.9 × 204.3 ± 74.5nm), 各具有三层膜, 外膜薄, 波纹状或较平坦, 中间具核。周围是核糖体, 细胞质中具质粒。细胞壁外有一薄层浆层。形状多样, 球形、椭圆形或杆状。具有横向二元融合或出芽生殖两种繁殖方式 ^[19] 。
细菌	弧菌	蛋白酶为鳃弧菌 M3 的主要致病因子, 隶属于金属蛋白酶, 分子量 36.5kDa, 等电点 5.1 左右, 在 pH8 和 5.5 时活性最大, 8.5 时失活。酶活性不受 PMSF 和 A 多肽影响, 但被 EDTA、EGTA 1, 10-phenanthroline(菲咯啉)和 HgCl ₂ 抑制。部分 N 端氨基酸序列为 AGATGTCGGAGLTC ^[20] 。

3 疾病的控制

水产动物疾病是伴随着水产养殖的开始而发生, 随着水产养殖的强化而严重。在某种程度上说, 水产养殖的成败与否, 与水产动物疾病的流行状况及水产动物疾病能否控制有着很大的关系。但近年来, 各国科研人员从不同角度对疾病进行防治, 包括免疫防治、药物防治、生态防治等。

3.1 免疫防治

免疫防治是利用水产养殖动物自身具有的特异性与非特异性免疫功能,通过疫苗、免疫激活剂、免疫增强剂等使养殖动物获得或增加免疫机能。为了给疫苗的使用指示方向,获得理想的免疫效果,科学家们对一些水产动物的免疫因子进行了研究,对免疫应答规律进行了探讨。

3.1.1 免疫因子

提高机体免疫力是水产动物疾病防治的一重要途径,而对机体本身免疫相关因子的研究可为探讨机体的免疫途径提供有力的依据。目前发现的免疫因子有以下几种:

(1)对虾汀(Penaeidins)。Penaeidins是从斑节对虾血淋巴中分离出的一种抗微生物多肽,它在血细胞中合成、储存,对真菌和G⁺菌具有杀灭活性。在微生物刺激下,具有Penaeidin转录活性的血细胞进入血液循环,多肽从血细胞中释放出来,通过几丁质结合特性粘附至虾角质层表面,杀灭细菌,在蜕壳阶段保护虾。无论在转录阶段还是多肽阶段,Penaeidin均可显示一定的抗感染能力^[21]。

(2)血蓝蛋白。血浆中大量存在的血蓝蛋白能产生一种C端的小片段,这种多肽具有广谱性抗真菌活性,能引起即时、系统的抗微生物反应,有助于微生物的清除。因此血蓝蛋白可看作是Penaeidin活性的补充^[21]。

(3)抗菌多肽。Guo Z Y^[22]从中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)中分离到一种新的抗菌多肽,它与Penaeidins具有60%同源性。这种内在的具有非特异性免疫功能的抗微生物多肽具有广阔的前景,在疾病控制上主要体现为两个方面:①作为化学治疗剂,保护幼体生长;②编码基因的表达序列,既可用于设计另一种育种程序,也可用于健康动物的监测。

(4)免疫相关基因。Premruethal S等^[21]在被哈氏弧菌感染的斑节对虾血细胞中发现了7种免疫相关基因,即抗脂多糖因子,丝蛋白酶抑制因子,penaeidin,11.5kDa抗菌蛋白,抗酚氧化酶(prophenoloxidase),热休克蛋白70,热休克蛋白90。对感染虾的cDNA文库进行构建,随机挑选409个克隆,发现181种(44.3%)与已知基因同源,而41个克隆被推断与免疫功能相关,其中抗微生物多肽占主导地位,16个克隆为抗脂多糖因子,8个克隆为11.5kDa的抗菌蛋白,这表明抵抗微生物是宿主抵抗细菌入侵的主要防御机制。

(5)新型压力蛋白(novel stress protein,NSP)。Dae K C^[23]等受杆状病毒感染的鱼类中发现了NSP这种新型压力蛋白,它隶属于内部蛋白序列,其中一段2700bp大小的片断包含一段公开阅读区,能编码730个氨基酸,分子量为79.84kDa。Northern分析表明这种新型的90kDa蛋白的表达受杆状病毒感染所致,其氨基酸序列与基因文库中已知的哺乳动物基因型无类似之处,却与原生动物的寡肽结合蛋白具有相似性。NSP在大肠杆菌(*E. coli* BL21)的表达能促进 α -葡萄苷酶折叠,阻止乙醇脱氢酶的凝聚,具有操纵子活性,能显著抑制病毒在细胞中的生长。

3.1.2 疫苗的研制

自1942年Duff成功使用第一个鱼用疫苗——疔疮口服疫苗以来,疫苗的发展获得了较大突破,不仅在病原种类方面有所增多(如鳃弧菌苗、疔疮菌苗、红嘴菌苗、传染性出血器官坏死症基因工程疫苗等),疫苗研制途径也有所发展。这些新的途径有:①研究抗独特性抗体疫苗如LPS疫苗工程和外毒素疫苗等,这种疫苗能通过Id和Aid(抗独特性抗体与抗抗独特性抗体)网络,通过Id和Aid相互识别,相互刺激和制约,对免疫应答进行调节,而达到更强和更有效的免疫效果;②在传统疫苗工程基础上予以发展,研究病原保护性亚单位蛋白疫苗,表达病原保护性抗原的活载体疫苗(基因工程活载体疫苗)等。③与基因工程技术相结合研制结合抗原成为疫苗;④在免疫途径方面,继口服法、注射法、浸泡法之后又发展了超声波法,在频率为280MW/CM³,35KHz时,先脉冲3min后浸浴,或者先浸浴,再脉冲超声波3min,然后再浸浴,采用这两种方法均可使疫苗的效果得到较好的发挥,效果优于腹部注射^[24,25]。

3.1.3 免疫增强剂的开发应用

葡聚糖、壳多糖、酵母、维生素A、C、D、E等作为免疫增强剂用于加强水产动物的非特异性免疫已

较为常见^[26-36],但免疫增强剂的大批量开发仍处于摸索状态。国内现通过深度发酵培养出一种新产品 FL,该产品含有 $\beta-1,3$ D多糖,17种氨基酸(其中7种为人体必需氨基酸),6种维生素($V_E, V_C, V_{B1}, V_{B2}, V_{B5}, V_{B6}$),15种矿物质(Zn, Fe, Cu, Mn, P, Ca, Na, Mg, K, Cr, Ba, Al, Si, Sr)。在22027.5hm²虾塘中投喂该种产品,虾总产量达1080Kg,且无任何疾病产生,表明FL能提高虾的免疫力,促进虾生长和幼虾的发育^[37]。FL的研制成功为免疫增强剂的大批量开发开辟了一条新途径。

3.2 药物防治

药物防治是水产动物疾病防治的一种最简单、最直接的方法,它在水产动物疾病防治上起着较重要的作用,然而药物具有正负两个方面的作用:一方面药物具有防病治病作用或改良环境、增强水产动物体质的作用,另一方面如果药物的频繁使用,不仅会导致病原体耐药性产生,使红物防治失效,而且会对养殖动物产生毒害或刺激作用,破坏养殖水体的微生态环境。只有大力开发使用水产专用药物,才能更有效地防治水产动物疾病,保护人类自身的健康和安全。微生态制剂与生物渔药不会对水产动物造成负面作用,它们的开发是药物防治的一个最有效和最有前途的方向,目前我们在这个方面已开始起步,并一定可获得较大的成果。

3.2.1 微生态制剂的开发

微生态制剂是至今研究的热点之一,它是利用水产动物体内外的正常微生物群落或促进物质经特殊加工工艺而制成的活菌制剂,以达到调节机体的正常生理功能和调节水体生态环境,净化水质、避免环境恶化,药物残留和废弃物污染的目的。微生态制剂研究主要体现在以下几点:①微生态制剂作用效果与作用机制的探讨,如乳糖酸细菌LAB能产生有机酸,使pH小于5,抑制弧菌生长,达到保护水产动物的目的^[38];②微生物菌株的筛选及联合作用。海洋藻类如海洋棕藻与LAB的联合能更有效抑制弧菌等细菌的生长,中间气单胞菌(*Aeromonas media*)和溶藻胶弧菌(*Vibrio alginolyticus*)的联合可抑制塔氏弧菌(*V. tubiashii*)的生长,将患病鱼存活率提高30.55%以上^[39]。

3.2.2 海洋药物的开发

海洋药物作为一种新的药物源已被开发利用,中科院海洋所^[40,41]从39种海洋藻类中抽提出来的物质,其中有19种具有抗炎活性,包括5种红藻2种棕藻。另外发现壳多糖和寡聚壳多糖能抑制弧菌属和链球菌属的生长,岩藻多糖具有抗肿瘤、抗病毒、抗凝集活性。对海洋药物的研究已成为水产动物药物研制的一个新动态。

3.3 生态防治

生态防治是根据病原体消涨的规律,环境动态变化的原因,水产养殖动物的生理特点、生态习性的特点以及水产养殖动物、环境和病原体之间的关系,采取某些相应的措施控制疾病发生的防治方法。无特定病原(Special pathogen free, SPF)选育作为生态防治的一种方法在病毒防治方面具有广阔前景,实践证明,在感染率不变的情况下,对WSSV免疫的SPF存活率可提高60%,对TSV免疫的SPF存活率高达76.7~85.4%^[42,43]。与此同时,继简单的轮养、修养、水处理等措施之后,各国提出防病养殖体系对疾病进行控制。

(1)活性悬浮塘(activated suspension ponds, ASP)。通过零交换或最小水交换缩小外源环境因子对虾类养殖的影响,保证最大的生物安全性。其主要技术包括:①为克服过量有机物对氧的降解,进行充氧。②增加放养密度以获得高产。③外源物质随水进入,降低淤泥积累。④用生物过滤,既控制虾类养殖,又控制异养微生物。悬浮的大量有机粒导致异养微生物产生。活性悬浮塘的一个重要环节是调节C/N,控制水中有毒的非有机氮及相应的蛋白产物,同时未被吃掉的氮源用于产生微生物蛋白。这些蛋白聚集成团,当作虾类的饵料。异养微生物量增多可降低细菌性疾病的暴发,从而使ASP获得高产^[44]。

(2)虾类防病养殖系统。该系统由以下部分构成:海水治疗设备,池底膜,中央废水抽滤装置。池塘圆形或方形,具充气设备,面积333.75~467.25hm²,水深1.5~2.5m,池底及四周用塑料膜包围,表面光滑。海水进池前经特殊过滤,整个防病系统可分为海水过滤防病系统和清洁海水防病系统两部分^[45]。

4 总结

综合以上各方面,我们可以看出,水产动物所面临的病害问题日益严峻,人们对病害的研究也更宽、更广,总的研究趋势表现在:

(1)学科之间的融合更紧密,疾病的防治与种质、营养、生理、养殖模式等有机结合,采用分子生物学方法加强抗病种质资源的培育,更新养殖模式,从营养学水平加强免疫等,使疾病防治的理论和技术水平再上一个台阶。

(2)在重大疾病特别是病毒病的防治技术方面有所突破。通过诊断试剂盒的开发,克服了水产动物疾病诊断的盲目性与主观性,迅速确定病原并由此迅速制定可靠的扑灭病原体的措施,控制疾病的蔓延。

(3)水产药物及微生态制剂的研制应用。海洋药物是没有任何污染的绿色渔药,它从海洋藻类中提制而成,具有毒性小、副作用小等优点,是水产动物药物研制的一个重要方向。免疫增强剂作为一种营养药物,具有增强水产动物机体功能,预防疾病发生的强大的优势,是水产动物药物研制的热点。微生态制剂亦是研究的热点之一,由于它具有调节机体的正常生理功能、调节水体生态环境、净化水质等优点,因此它的筛选、制备及其机制的研究又成了微生态制剂的研究热点。

(4)疫苗及免疫途径的研究。在传统疫苗的基础上,人们着手研制抗独特性抗体疫苗如 LPS 疫苗以达到更强和更有效的免疫效果,研究病原保护性亚单位肽疫苗,缺失病原基因部分成份而致弱的活疫苗等。在免疫途径方面,采用超声波方法处理后的疫苗进行浸浴或泼洒,增强免疫效果。

参考文献:

- [1] Park M S , Jee B Y , Sung H J , et al. Status and prospects of fish diseases in Korea[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 :586.
- [2] Ahmed A , Roselyn D , Yuasa K , et al. Environmental and bacterial role in the fish kill of mullet *Liza klunzingeri* in Kuwait Bay[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 :35.
- [3] Nasser H , Mehrzad M , Rahim P. The parasitic infections of *Penaeus indicus* in Southwest Iran[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 :295.
- [4] Li X H , Wu S Q , Li K B . et al. A method of diagnostic uncharacterized DNA virus on mandarin fish(*Siniperca chuatsi*) [A]. World Aquaculture Society[C] 2002 :412.
- [5] Do J W , Choi D L , Lee J S , et al. Japanese parrotfish iridovirus(JPIV) disease in Korea fish[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 :186.
- [6] Bonami J R. A new viral disease in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergi*[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 :79.
- [7] Chen X H , Wang X W , Lin K B. A rapid PCR-based method for detecting *Pseudosciaena Crocea* iridovirus[A]. World Aquaculture Society[C] , 2002 :117.
- [8] Jorge C M , Carmen A T , Rebeca V Y. Rycnogonids and piramidelids associated to the health condition of abalone *Halotis* sp.[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 :92.
- [9] Mahmoud M and Jamileh P. Protozoan parasites form Iranian freshwater fishes[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 :485.
- [10] Mokhayer B. Parasite crustaceans of finfish and shellfish in Iran aquaculture[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 :516.
- [11] Yan Q P , Zhang W , Chi X C. Detection of *Vibrio alginolyticus* by indirect ELISA using of anti-LPS serum[A]. World Aquaculture Society[C] , 2002 :825.
- [12] Dhar A K , Roux M M , Klimpel K R. Quantitation assay for measuring the Taura syndrome virus and yellow head virus load in shrimp by real-time RT-PCR using SYBR Green chemistry[J]. J Viral Methods. 2002 Jun ;104(1) 69 - 82.
- [13] Hu C Q , Shen Q , Ren C H , et al. Preparations and uses of detection kits for taura syndrome virus (TSV) , infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHNV) and white spot syndrome virus (WSSV) [A]. World Aquaculture Society[C] 2002 :305.
- [14] Wansika K , Anchalee T , Sakol P , et al. Non-stop , single-tube semi-nested PCR techniques for semiquantification of white spot syndrome virus (WSSV) and yellow head virus(YHV) infections in *Penaeus monodon*[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 :346.
- [15] Zhang Q Z , Wang Z J , Pan J P. The report of *Dermocystidium* sp. from catfish in China[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 :899.
- [16] Kou G H and L C F. Spawning stress and shrimp virus replication[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 :363.
- [17] Wu X Z and Pan J P. Advances in the research of marine animal diseases in China[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 :830.
- [18] He G Z M Li Y , Wang C M , et al. Study on pathogenic infection status of *Chlamys farreri*[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 :289.
- [19] Li D F and Wu X Z. Purification and biological features of rickettsia-like organism(RLO) from scallops *Chlamys ferrei* and *Argopecten irradians* in

- China[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,832.
- [20] Mo Z L , Chen S Y , Zhang Z K. Metalloprotease , a possible virulent factor of *Vibrio anguillarum* isolated from cultured flounder *Paralichthys olivaceus*[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,512.
- [21] Premruethai S , Sirawut K , Rath P , et al. Immune-related genes discovery by expressed sequence tags analysis of haemocytes in the *Vibrio harvey* infected *Penaeus monodon*[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,743.
- [22] Guo Z Y , Xiang J H , Wu C G. A novel antibacterial peptid isolated from the shrimp *Fenneropenaeus chinensis* after bacterial challenge.[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,277.
- [23] Dae K C , Cho W J , Yun W J , et al. New target for fish virus therapeutics : a novel chaperone-like protein induced by fish virus infection[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,142.
- [24] Kin D T , Michele K , Martyn L G , et al. Development of vaccination methods for the control of bacterial kidney disease in salmonids[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,756.
- [25] Zhou Y C , Jun W , Zhang B , et al. Ultrasonic immunization of sea bream , *Pagrosamus major* , against *Vivrio alginalyticus* and *V. Anguillarum* [A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,926.
- [26] Kim H G , Moon C H , Yoon W J , et al. Yeast species for rotifer culture and their nutritional value for flounder *Paralichthys olivaceus*[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,351.
- [27] Zhou H M , Ding S X. Construction of flai gene eukaryotic expression plasmid of *Vibrio parahaemolyticus*[A]. World Aquaculture Society[C] , 2002 ,921.
- [28] Ai C X , Chen L Q , Wen X B , et al. Effect of dietary vitamin C and immunopolysaccharide on non-specific immunity of Chinese mitten-handed crab *Eriocheir sinensis*[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,23.
- [29] Ai C X , Chen L Q , Wen X B , et al. Studies on vitamin C requirements of the juvenile vral(*Eriocheir sinensis*) [A]. World Aquaculture Society [C] 2002 ,22.
- [30] Ceulemans S , Tort L , Rottlant J. Screening of immunostimulants for the gilthead seabream *Sparus aurata* under simulated winter conditions[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,102.
- [31] Shivananda H , Murthy. Dietary supplementation of probiotics and immunostimulants on growth and disease resistance in prawn[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,529.
- [32] Corteau P , Ceulemans S , Chim L , et al. Improved nutrition enhances the non-specific immune system and reduces mortality I a challenge test in *Penaeus stylirostris*[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,151.
- [33] Ok I H , Sungchul C B , Kim K W , et al. Effects of dietary B-1 β glucan on growth and immuno response in juvenile olive flounder , *Paralichthys olivaceus*[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,560.
- [34] Park G J , Sungchul C B , Kim K W , et al. Effects of dietary B-1 β glucan on growth and immuno response in juvenile Korean rockfish , *Sebastes schlegelii*[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,581.
- [35] Min W , Kangsen M , Zhang W B , et al. Effects of graded levels of dietary vitamins A and D on immunological characteristics of abalone , *Haliotis discus hannai ino*[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,774.
- [36] Yeo I K , Jeon Y J , Heo M S , et al. Antimicrobial property of chitosan and its oligosaccharides for development of functional fish feed to inhibit growth of *vibrio sp.* [A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,866.
- [37] Chen H , Chen T , Chen X. A low cost immunopotentiator with high biological effect in feeding different sorts of shrimp[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,116.
- [38] Heo M S , Jeon Y J , Song C B , et al. Co-culture of lactic acid bacteria with flounder fish pathogend , *Vibrio anguillarum* and *Harver*[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,293.
- [39] Cheok K T. The potential application application of probiotics in an oyster hatchery[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,748.
- [40] Niu R L , Fan X , Han L J. Anti-inflammatory activity in vitro from marine algae from Chinese coasts against human leukocyte elastase[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,546.
- [41] Song C B , Jeon Y J , Heo N S. Antimicrobial property of chitosan and its lligosaccharides for development of functional fish feed to inhibit growth of pathogenic bacteria causing flounder fish diseases in aquacultural farm[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,713.
- [42] Clete A O , Steve M A , Shaun M M. Biosecure shrimp broodstock production : Growth and reproductive performance of specific pathogen free *Litopenaeus vannamei*[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,45.
- [43] Kong J , Zhang Q W , Liu P , et al. Studies on disease resistant stock selection of *Fenneropenaeus chinensis*[A]. World Aquaculture Society[C] , 2002 ,359.
- [44] Yoram A. Activated suspension ponds : Microbial re-use systems[A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,51.
- [45] Hu C Q , Zhang L P , Ren C H , et al. Intensive perventive culture techniques of *Litopenaeus vannamei* , *Litopenaeus stylirostris* and *Penaeus mondon* [A]. World Aquaculture Society[C] 2002 ,303.