

# 草鱼出血病病毒的研究进展\*

李 军 王铁辉 陆仁后 陈宏溪

(中国科学院水生生物研究所 武汉 430072)

**提要** 根据80—90年代中国关于草鱼出血病病毒研究的进展,就草鱼出血病病毒的发现、形态结构特征、理化特性、基因组结构及其所编码的多肽、基因组的转录和翻译过程,病毒的繁殖动态、体外细胞培养特性,病毒对鱼体的致病机理和宿主范围,草鱼出血病的诊断和防治等问题进行综合评述,总结概括了草鱼出血病病毒的研究现状以及研究中需要亟待解决的问题,并提出该领域以后的重点研究方向。

**关键词** 草鱼出血病病毒 水生动物呼肠孤病毒 研究进展

**学科分类号** S945.1

草鱼出血病病毒隶属水生呼肠孤病毒属(*Aquareoviridae*),是中国分离的第一种鱼类病毒,目前已经报道了10多个分离株。该病毒主要引起中国淡水养殖主要品种草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)在鱼种阶段发生出血病,死亡率高达90%以上,给水产养殖业造成巨大损失。近20年来,随着鱼类病毒学的不断发展以及现代分子生物学技术在鱼类病毒研究领域的广泛应用,中国的科技工作者对草鱼出血病病毒(GCHV)的研究和认识也愈来愈深入,取得了许多突破性的进展,丰富了鱼类病毒学的知识,尤其是进一步加深了人们对于水生呼肠孤病毒特殊性的认识。本文对此进行综合评述,以期为进一步深入开展GCHV以及其它有关水生呼肠孤病毒的研究提供参考。

## 1 GCHV的发现

关于草鱼出血病的研究最早始于本世纪50年代。但正式对其病原体进行分离研究则始于70年代末期,由于抗菌素和磺胺类药物治疗无效,同时采用细菌学方法分离病原并进行感染实验,不能使感染鱼发生出血病死亡,因此,怀疑病原可能是病毒(湖北省水生生物研究所三室,1977)。后来,用分离病毒的方法从病鱼组织得到的滤液感染草鱼,复制出典型的出血病症状,并通过电镜直接观察到了病毒颗粒,证实了草鱼出血病的病原为病毒(中国科学院水生生物研究所三室病毒组,1978,1980)。通过对其形态结构和理化特性的进一步研究,定名为草鱼呼肠孤病毒(Reovirus of Grass Carp, GCRV)(陈燕新等,1983)。中国科学院武汉病毒研究所等(1983,1984b)也从患出血病的草鱼中分离到一株类似的病毒,定名为鱼呼肠孤病毒(Fish Reovirus, FRV),后来又有一些关于草鱼出血病

\* 国家“八五”攻关课题,857220902号。李军,男,出生于1968年12月,讲师,现为香港中文大学生物系博士生, E-mail:lijum@cuhk.edu.hk

收稿日期:1997-07-18,收修改稿日期:1998-07-23

类似的病毒分离株的报道(毛树坚等, 1988, 1989a; 柯丽华等, 1990; 王炜等, 1990; 曾令兵等, 1991, 1992; 王铁辉等, 1993, 1994)。现在习惯统称为草鱼出血病病毒(Hemorrhagic Virus of Grass Carp, GCHV)(王铁辉等, 1995)。

## 2 GCHV 的形态结构特征

王炜等(1990)对 GCHV873 毒株进行了电镜观察, 发现病毒颗粒呈 5:3:2 对称的正廿面体, 双层衣壳, 外径分别为  $72 \pm 3\text{nm}$  和  $50 \pm 2\text{nm}$ ; 外层衣壳厚  $12.3 \pm 0.4\text{nm}$ , 内层衣壳厚  $7.2 \pm 0.7\text{nm}$ ; 外层衣壳由 92 个中空型子粒组成, 其中有 12 个五邻体和 80 个六邻体, 结构亚单位总数为  $6.0 \pm 0.4\text{nm}$ ; 六邻体直径为  $12.6 \pm 0.4\text{nm}$ , 中心孔径为  $7.5 \pm 0.4\text{nm}$ ; 衣壳三角形面边长为  $42.5\text{nm}$ , 每边共有 4 个子粒。GCHV 其它毒株均有类似的结构, 但报道的病毒颗粒大小有较大的差异, 直径范围在 55—80nm(陈燕新等, 1983; 中国科学院武汉病毒研究所等, 1984a; 毛树坚等, 1989a; 柯丽华等, 1990)。这可能是由于各毒株大小的确存在差异, 也可能是由于实验误差造成的。

另外, 毛树坚等(1989b)报道, 从患出血病草鱼病变组织中观察到直径分别为 70nm 和 20nm 左右的两种病毒颗粒, 并经分离纯化获得病毒。通过形态学观察、致病性分析、核酸定性测定, 以及在鱼类细胞中的增殖特性研究, 证实两者均为草鱼出血病的病原, 并认为前者为草鱼呼肠孤病毒, 后者为草鱼小核糖核酸病毒。关于草鱼小核糖核酸病毒导致草鱼出血病的病理机制以及病原和病症的关系, 尚需进一步的探讨(邵健忠等, 1990, 1992)。

电镜下还可看到 GCHV 的内层核衣壳及所附着的中空圆柱形钉状物, 它们位于正廿面体的 12 个顶点上, 同五邻体子粒的位置一致, 长度不及外层衣壳的厚度, 不能伸到完整病毒的外表面, 其功能可能与复制时病毒核酸的释放有关, 是病毒基因组片段的释放通道(王炜等, 1990)。

## 3 GCHV 的化学组成及理化特性

GCHV 主要由蛋白质和核酸组成, 还含有少量的糖类, 以糖蛋白的形成存在, 不含脂类(陈延等, 1992)。完整病毒在氯化铯中的浮力密度约为  $1.36\text{g/ml}$ (柯丽华等, 1990)。GCHV 对温度有一定的稳定性, 但反复冻融会对病毒感染力有较大影响。病毒对氯仿、乙醚等有机溶剂有一定的抗性, 对酸( $\text{pH} = 3$ )、碱( $\text{pH} = 10$ )处理不敏感(陈燕新等, 1983; 张念慈等, 1986)。另外, 用胰凝乳蛋白酶和酸性溶液处理 GCHV, 病毒滴度都略有上升(曾令兵等, 1992)。

## 4 GCHV 的基因组及其所编码的多肽

GCHV 基因组由 11 个 dsRNA(双链核糖核酸)片段组成, 不同的毒株之间, 病毒基因组的总分子量差异不大(约  $15 \times 10^6\text{D}$ ), 而各片段分子量有所差异。按分子量大小, 11 个片段可分为三组, 即较大片段( $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ )、中等片段( $M_1$ 、 $M_2$ 、 $M_3$ )和小片段( $S_1$ 、 $S_2$ 、 $S_3$ 、 $S_4$ 、 $S_5$ ), 见表 1。

柯丽华等(1992)对 GCHV-873 完整病毒颗粒及其双层衣壳的多肽组成研究结果显示, 组成核病毒颗粒的结构多肽链有 11 条, 按其分子量大小分别为 VP130(VP 表示病毒多肽, 数据为分子量, 单位为 kd, 即 130kd, 下同)、VP115、VP100、VP90、VP80、VP73、VP67、VP50、VP43、VP36 和 VP27。其中 VP130、VP115、VP67、VP36、VP27 为主要成分, 这与国外报道的鱼类水生呼肠孤病毒的多肽组成基本相同(Winton *et al.*, 1987)。进一步的研究

表1 GCHV和4种水生动物呼肠孤病毒分子量大小的比较

Tab.1 Comparison of the molecular weight of GCHV and four other aquareoviruses

病毒株	基因组片段(kb)											总分子量(kb)
	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>	L <sub>3</sub>	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	
GCHV-D <sub>2</sub> <sup>1)</sup>	2.48	2.47	2.26	1.52	1.40	1.38	1.30	1.06	0.91	0.89	0.60	15.52
武汉南湖株 <sup>2)</sup>	2.75	2.47	2.26	1.52	1.40	1.38	1.06	0.91	0.89	0.60	0.55	15.06
GCHV-873 <sup>3)</sup>	3.10	2.70	2.33	1.34	1.25	1.21	0.87	0.82	0.71	0.57	0.55	15.46
GCHV-861 <sup>4)</sup>	2.85	2.70	2.65	1.30	1.25	1.20	1.04	0.95	0.89	0.75	0.70	16.28
GCHV-854 <sup>5)</sup>	2.45	2.28	2.24	1.50	1.42	1.30	1.00	0.80	0.55	0.54	0.30	14.06
13P2	2.40	2.30	2.30	1.90	1.70	1.40	0.85	0.80	0.57	0.55	0.47	15.04
CSV	2.40	2.40	2.30	1.80	1.70	1.50	0.88	0.85	0.61	0.47	0.31	15.22
GSV	2.50	2.40	2.20	1.60	1.50	1.40	0.90	0.80	0.66	0.40	0.35	14.71
GRV	2.40	2.40	2.30	1.60	1.50	1.30	0.90	0.88	0.61	0.41	0.40	14.70

文献来源: 1)陈燕新等(1991)\*; 2)王伟等(1990); 3)柯丽华等(1990); 4)李军等(1998); 5)曾令兵等(1991)。表中后4株均引自Winton等(1978)。

表明,内层核衣壳由 VP130、VP115、VP100、VP90、VP80 和 VP36 等 6 种多肽组成,可见余下的 VP73、VP67、VP50、VP43 和 VP27 为外层衣壳所特有。通过对 GCHV873 毒株基因组及其所编码的多肽链的研究表明:基因组片段 L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、L<sub>3</sub>、M<sub>1</sub>、M<sub>2</sub>和 S<sub>4</sub>分别编码病毒核心衣壳的 6 种多肽,即 VP130、VP115、VP100、VP90、VP80 和 VP73;片段 M<sub>3</sub>和 S<sub>1</sub>分别编码病毒外层衣壳的结构多肽 VP73 和 VP67。片段 S<sub>2</sub>、S<sub>3</sub>分别编码分子量为 52kd 和 41kd 的多肽链;片段 S<sub>5</sub>编码分子量为 29kd 和 19.5kd 的两种多肽链,说明 S<sub>5</sub>可能有两个翻译起始位点(王伟等,1994),见图 1。GCHV873 基因组共编码 12 条多肽链,其中除片段 S<sub>2</sub>、S<sub>3</sub>和 S<sub>5</sub>编码的多肽链与病毒衣壳中的结构多肽链在分子量上有所差异外,其它多肽链大小都是一致的。推测片段 S<sub>2</sub>、S<sub>3</sub>和 S<sub>5</sub>编码的这些多肽链可能为结构多肽的非成熟中间产物,需要在宿主细胞内通过后加工造成分子量的增大或减小,抑或非结构

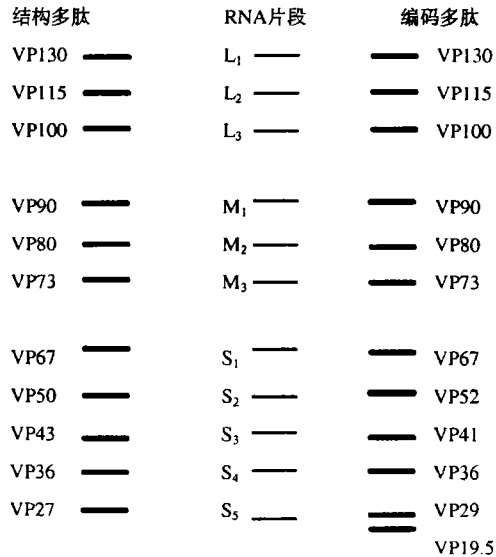


图1 GCHV873基因组片段及其所编码的多肽和病毒结构多肽

Fig.1 The RNA fragments and their encoded peptides, and structural peptides in GCHV873

\* 陈燕新,1991. 草鱼出血病病毒RNA基因组的分析. 鱼类病害研究,13(1):1—5

多肽,有待于进一步深入研究。

另外,关于 GCHV 的基因克隆与序列分析方面的研究工作才刚刚起步,Wang 等(1994)在国内率先克隆了 BCHV 基因组的  $M_3$  和  $S_3$  片断,并对已克隆的病毒基因组片段进行了序列分析,进一步的工作正在进行中。

## 5 草鱼出血病病毒基因组的转录和翻译

关于 GCHV 在宿主细胞内的复制过程,特别是基因组的转录和翻译还知之甚少。近年来的研究表明:GCHV 核心内含有 RNA 转录酶,可催化 dsRNA 中的一条链转录合成 mRNA,该酶在 28℃ 时的反应活性最高且能保持较长的时间(柯丽华等,1992;黄健等,1992)。在体外转录条件下, RNA 转录酶需要低离子浓度活化,其机制可能是低离子浓度溶液处理,使病毒粒子外层衣壳子粒松散脱落,暴露出核心上的 RNA 转录酶活性基因,更利于催化 dsRNA 转录合成 mRNA。GCHV 转录酶的上述特征,有别于呼肠孤病毒科的其它成员,这是由于它们各自所适应不同的宿主的结构(黄健等,1992;张保焰等,1993)。

张保焰等(1993)研究还发现,GCHV 基因组的体内转录分为早晚两期,早期转录是在病毒感染细胞后 4h 开始的,8h 后开始晚期转录。转录产物 mRNA 的大小和数目大体上与病毒基因组的一致。早期转录是 RNA 转录酶以初始感染的病毒 dsRNA 为模板进行的转录;晚期转录则是以子代病毒基因组为模板进行的转录,二者没有本质上的差别,只是转录模板的来源不同。GCHV 基因组的转录和翻译过程都是在宿主细胞质中完成的,病毒核酸可穿过核心上的中空钉状物释放到宿主细胞的细胞质中。通过对人工释放病毒基因组的电子显微镜观察,往往可以看到三种情形:RNA 双链一端与核心衣壳相连,构成类似反应核心的形态;有些 RNA 双链似乎与核心上的钉状物相连接;还有的在细胞质中游离存在。这可能是释放中的病毒基因组所处的阶段不同所致。

目前,尚未见到关于 GCHV 体内翻译的报道。但是对 GCHV873 毒株体外翻译的研究果表明(柯丽华等,1992):草鱼出血病病毒 dsRNA 的一条链具有 mRNA 的性质,可在体外进行翻译,其翻译产物为 11 条多肽链,与病毒的结构多肽是一致的,只是片段  $S_2$ 、 $S_3$  和  $S_5$  编码的多肽与病毒衣壳中的结构多肽在分子量上有所差异。推测这些体外翻译产物可能为结构多肽的非成熟中间产物,在宿主细胞内装配过程中还需要进一步的修饰加工,这有待于进一步研究。

## 6 草鱼出血病病毒的繁殖动态及细胞培养特性

GCHV 在鱼类细胞中的增殖过程,目前尚无详细报道,初步研究结果表明,GCHV 可能通过细胞吞噬作用进入宿主细胞,在细胞质中完成 RNA 的复制,然后,随着 RNA 及其蛋白质的合成,集中到细胞核附近的被称为毒浆结构的区域,病毒在此结构中装配并发育成熟,随宿主细胞的迸裂而释放出来,重新感染其它正常细胞(毛树坚等,1989a)。GCHV 能感染培养细胞并增殖和传代,产生合胞体状细胞病变效应(cytopathic effect, CPE)(陈燕新等,1986<sup>1)</sup>;方勤等,1989)。GCHV 在体外培养细胞中的最适增殖温度为 28℃,一般感染 12h 后即开始增殖,24—72h 大量增殖,培养细胞出现典型的 CPE,5d 左右达到最大增

1) 陈燕新,李正秋,1986. 草鱼呼肠孤病毒的离体培养及超微病变. 鱼病简讯, 2: 1—2

殖,此时病毒的滴度最高,以后逐渐趋于平缓(曾令兵等,1993)。

现已建立起多株对 GCHV 敏感的细胞系/株(表 2)。对于野生毒株,一开始对培养细胞的感染力较弱,往往没有 CPE,盲传几代甚至十几代后,病毒感染力随传代逐渐增强,才出现明显而稳定的 CPE。GCHV 感染细胞,有的毒株可感染单层培养细胞产生 CPE,而有的毒株不产生 CPE 但能在培养细胞中复制(李军等,1998)。GCHV 感染细胞的能力与其感染鱼体的毒力并不都是一致的:其一,有的毒株(如 GCHV873)对培养细胞的感染力较强,但是对鱼体的毒力却较弱;有的毒株恰恰相反(如 GCHV861)(李军等,

表2 对草鱼出血病病毒敏感的细胞系

Tab.2 Sensitive cell lines to Grass Carp of Haemorrhagic Virus

细胞系	组织来源	文 献	细胞系	组织来源	文 献
ZC-7901	草鱼吻端组织	张念慈等(1986)	CF-84	草鱼鳍条组织	王迎喜等(1986) <sup>1)</sup>
CIK	草鱼肾脏组织	左文功等(1984)	GCB	草鱼囊胚组织	Wang等(1993)
CCK-84	草鱼肾脏组织	邓初夏等(1985)	GRE	稀有鲫囊胚组织	王铁辉(1995)
GCCF-2	草鱼尾鳍组织	魏彦章等(1987)	GAB-80	鲫鱼胚胎组织	陈敏容等(1985)
GCO	草鱼卵巢组织	陈燕新等(1986) <sup>2)</sup>	BCC	团头鲂尾鳍组织	邓初夏等(1985)

1) 王迎喜,1986. 草鱼呼肠孤病毒(Reovirus)感染鳍条细胞株,鱼病简讯,4:2—5

2) 陈燕新,李正秋,1986. 草鱼呼肠孤病毒的离体培养及超微病变. 鱼病简讯,2:1—2

1998);其二,GCHV 对培养细胞的特异性往往较对鱼体的特异性差,例如,GCHV 不能感染团头鲂但能感染其组织细胞系 BCC(邓初夏等,1985)。

## 7 草鱼出血病病毒的致病机理及宿主范围

围草鱼鱼种感染 GCHV 后,在潜伏期和发展期,鱼体红血球、血浆总蛋白、血和尿素氮明显减少,病鱼乳酸脱氢酶(SLDH)同功酶紊乱。在某些感染鱼中,SLDH 明显多出一条区带(朱心玲等,1987)。在出血病流行期间,其它血液学指标也有相似的变化,如:血清钾含量增加,钙含量减少;病鱼白细胞和淋巴细胞百分率降低,单核细胞和中性粒细胞百分率增高。各脏器小血管内皮广泛受损,引起弥散性血管内凝血并形成微血栓,耗去大量凝血因子,引起出血,使循环血量大为减少,由于微血栓形成和血液淤带,阻闭了局部的微循环,使正常代谢发生障碍,导致脏器组织病变(郑崇德等,1986)。

组织病理学研究结果表明,病毒能在草鱼血管及微血管内皮细胞、脾网状细胞、肾、肠道等组织中复制,而在肝脏、肌肉和鳃未发现病毒颗粒(中国科学院水生生物研究所三室病毒组,1980;丁清泉等,1990)。但是王铁辉等(1993)在研究感染出血病的稀有鲫的细胞病理中发现,鳃是 GCHV 侵袭的主要组织,并认为也可能是 GCHV 感染草鱼及其它鱼类的主要入侵途径。另外,毛树坚等(1988)通过电镜也有关于在病鱼的肌内等组织中观察到 GCHV 颗粒的报道。李军等(1997)应用 RT-PCR 技术对人工感染的草鱼出血病病鱼的不同组织进行了检测。结果显示,肝脏、肾脏和肠道的扩增条带较亮,肌肉和鳃次之,脾脏最弱。说明前几种组织中 GCHV 含量较高。邵健忠等(1996)应用 Dot-ELISA 技术对患出血病草鱼的不同组织进行检测,也得到类似的结果,都说明肝脏中含有较多的病毒颗粒。证实肝脏也是 GCHV 侵染的主要器官。这同以往电镜观察结果不一致,其原因可能是其它组织中的病毒颗粒释放到血液中,随血液循环抵达这些器官并在这些组

织器官的血管、微血管内皮细胞内增殖的结果。除上述分析外,也不能排除 GCHV 可以在上述器官和组织中增殖的可能性,因为 RT-PCR和 Dot-ELISA技术的灵敏度较电镜技术要高得多,况且电镜观察结果与电镜样品的制备有很大的关系,往往有较大的漏检性。关于 GCHV 可寄生的敏感组织和器官问题,需要作进一步的研究。

GCHV 除能感染草鱼外,还能感染青鱼、麦穗鱼、布氏餐条、稀有鮰 鲫和鲢等,并能使这几种鱼发生出血病而死亡(中国科学院水生生物研究所三室病毒组,1978;丁清泉等,1991),尤其是稀有鮰 鲫死亡率高达 100%(王铁辉等,1994)。丁清泉等(1991)报道,GCHV 能在鲢和布氏餐条体内复制,但不发生出血病,不能感染鲤、团头鲂、泥鳅、鳙和鲫等。

## 8 GCHV 的检测

关于 GCHV 的检测,电镜观察是最直观而有效的方法,所以在最初的研究中应用较多,但是存在着技术和仪器要求复杂、样品制备较麻烦等问题。随着现代免疫学和分子生物学技术在鱼类病毒检测和诊断中的应用,使 GCHV 的检测和诊断变得日益简便和快速(李军等,1996b)。杨广志等(1991)首先将葡萄球菌 A 蛋白协同凝集试验(SPA-coA)应用于 GCHV 的快速检测,具有方法简便、易操作且不需要特殊仪器设备等优点,可以检测纯化的病毒、培养细胞中感染的病毒以及病鱼组织中的病毒,具有较好的特异性和敏感性。后来,江育林等(1993)<sup>1)</sup>利用荧光抗体技术(FA)和酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 GCHV,也取得了较好的效果,检测灵敏度达到  $10^4$ TCID<sub>50</sub> / ml。最近,邵健忠等(1996)报道了快速检测 GCHV 的 Dot-ELISA方法,并系统比较了该方法与 SPA-coA及常规 ELISA方法的灵敏度,结果显示, Dot-ELISA检出 GCHV 的最低量为 3pg,其灵敏度较 SPA-coA和常规 ELISA 分别提高了 10 倍和 20 倍,而且快速易行,更适合于生产应用。王铁辉等(1997)根据已克隆的 GCHV861 病毒株基因组 M<sub>3</sub>和 S<sub>3</sub>片段的部分 cDNA 序列,设计合成了两对引物,首先应用逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)技术成功地扩增了 GCHV 基因组的特异片段,建立了快速检测 GCHV 的新方法。应用该技术对纯化的 GCHV 核酸进行 RT-PCR扩增,最小检测量可达 0.1pg 病毒核酸对人工感染 GCHV861 毒株的草鱼进行 RT-PCR扩增,不仅能检测到发病期显症病鱼中病毒的存在,还能检测发病前期及愈后病毒携带者中 GCHV 的存在。该法还能检测自然发病鱼及染毒细胞中 GCHV 的存在(李军等,1996a, b,1997;Li *et al*,1997)。可见,RT-PCR技术是目前检测 GCHV 最为灵敏而特异的方法,对草鱼出血病的早期诊断和预防,及抗病育种都具有重要意义。

## 9 草鱼出血病的防治及抗病毒药物的研究

事实上,至今人们还没有研制出能有效抑制和杀灭病毒的药物。目前所采用的只是些被动防御措施,或加强机体的免疫防护功能;或创造不利于病毒快速增殖的宿内环境。在 70 年代,中国科学院水生生物研究所的研究人员曾经对草鱼出血病进行了大量的药物筛选工作,初步证实了某些药物有抗病毒效能。近年来,朱心玲等(1993)对水产药品克列奥鱼服康的主药 87-05和 88-01的抗病毒作用的研究结果表明,两种药对 GCHV 具有

1) 江育林,李 艳,李正秋,1993. 两种快速检测技术试验条件的探索及特性比较. 中国水产学会鱼病学分会第三次鱼病研讨会议论文摘要汇编. 武汉

明显的抑毒效果,并具有协同作用。免疫防治是行之有效的办法,但是由于对草鱼出血病病毒各地流行株的免疫原性尚缺乏系统的比较研究,因而尚未制备出能广泛使用的鱼用疫苗。免疫防治草鱼出血病目前主要应用灭活组织浆疫苗,由于费时、费力或效价难以稳定,所以虽已于生产实践中应用,但范围有限。关于草鱼出血病的免疫及中草药防治,曾有系统的综述(王铁辉等,1995)。

干扰素是至今发现的最为理想的一种抗病毒生物活性物质,目前研究较为活跃,在人和高等脊椎动物中已有大量的研究和研制,部分已形成商品化生产。鱼类干扰素的研究较少。江育林等(1991)在大马哈鱼呼肠孤病毒感染的草鱼鳍条细胞中检测到类干扰素物质。邵健忠等(1993)从人工诱变筛选的抗出血病病毒的草鱼细胞中也检测到一种高效抗病毒蛋白因子,与高等脊椎动物干扰素的理化性质和生物学特性相似。该蛋白因子在体外敏感细胞株上表现出很强的抗病毒活性,在鱼体中也有明显的抗病毒感染作用,主要表现在能延缓发病时间,降低死亡率。进一步深入开展鱼类干扰素的研究,对有效防治鱼类病毒性疾病具有积极意义。另外,关于抗出血病草鱼的细胞和基因工程育种研究,已取得很多有价值的基础性资料,这是从根本上解决这一病害的有效途径,值得作深入探索。

**致谢** 王俊伟研究员阅读全文,并帮助修改,谨致谢忱。

### 参 考 文 献

- 丁清泉, 余兰芬, 王学兰等, 1990. 草鱼出血病病毒主要器官的超薄切片观察及感染力的比较. 水产学报, 14(1): 66—69
- 丁清泉, 余兰芬, 王学兰等, 1991. 草鱼出血病病毒对其它鱼的感染性研究. 中国病毒学, 6(4): 371—373
- 王 炜, 陈 延, 柯丽华等, 1990. 草鱼出血病病毒武汉南湖株的精细结构与基因组及其多肽的研究. 中国病毒学, 6(1): 44—49
- 王 炜, 蔡宜权, 方 勤等, 1994. 草鱼出血病病毒多肽的基因定位. 中国病毒学, 9(4): 356—361
- 王铁辉, 陈宏溪, 刘沛霖等, 1993. 草鱼出血病病毒人工感染稀有鮰鲫出血病鱼主要器官组织的超薄切片观察. 水生生物学报, 17(4): 343—346
- 王铁辉, 刘沛霖, 陈宏溪等, 1994. 稀有鮰鲫对草鱼出血病病毒敏感性的初步研究. 水生生物学报, 18(2): 144—149
- 王铁辉, 陈宏溪, 1995. 草鱼出血病研究进展. 见: 彭珍荣等编. 现代微生物学研究进展. 武汉: 武汉大学出版社, 150—159
- 王铁辉, 李 军, 易咏兰等, 1997. 用逆转录聚合酶链式反应检测草鱼出血病病毒的研究. 海洋与湖沼, 28(1): 1—6
- 中国科学院水生生物研究所三室病毒组, 1978. 草鱼出血病病原的研究. 水生生物学集刊, 6(3): 321—329
- 中国科学院水生生物研究所三室病毒组, 1980. 草鱼出血病病原的研究(II): 电镜观察. 水生生物学集刊, 7(1): 75—79
- 中国科学院武汉病毒研究所, 中国水产科学院长江水产研究所沙市分所草鱼出血病协作组, 1983. 草鱼出血病病毒的电镜观察初报. 淡水渔业, 3: 39—40
- 中国科学院武汉病毒研究所, 中国水产科学院长江水产研究所沙市分所草鱼出血病协作组, 1984a. 草鱼出血病病毒精细结构的研究. 淡水渔业, 2: 21—22
- 中国科学院武汉病毒研究所, 中国水产科学院长江水产研究所沙市分所草鱼出血病协作组, 1984b. 草鱼出血病病原——鱼呼肠孤病毒核酸特性的研究. 淡水渔业, 4: 7—9
- 毛树坚, 杭 绮, 陈汉明等, 1988. 草鱼出血病两种病原病毒的细胞病理学观察. 海洋与湖沼, 19(5): 435—

438

- 毛树坚, 邵健忠, 杭 绮等, 1989a. 草鱼出血病的病原研究. 水产学报, 13(1):1—5
- 毛树坚, 邵健忠, 1989b. 草鱼出血病病毒在鱼类细胞中增值的研究. 杭州大学学报, 16(4):471—475
- 方 勤, 柯丽华, 蔡宜权, 1989. 草鱼出血病病毒的生长特性及高滴价培养. 病毒学杂志, 3:315—318
- 邓初夏, 陈宏溪, 1985. 几种鱼类细胞对草鱼呼肠孤病毒敏感性的研究. 水生生物学报, 9(4):351—358
- 朱心玲, 贾丽珠, 张明瑛, 1987. 草鱼出血病潜伏期和发病期的血液病理研究. 水生生物学报, 11(1):59—66
- 朱心玲, 李爱华, 射巧雄, 1993. 克列奥鱼服康抗草鱼出血病病毒的实验研究. 见: 鱼病学研究论文集. 北京: 海洋出版社, 20—25
- 江育林, 李正秋, 1991. 病毒感染的草鱼细胞产生类干扰素物质的研究. 病毒学报, 7:30—35
- 李 军, 王铁辉, 陆仁后等, 1996a. 鱼类病毒检测技术. 海洋与湖沼通报, 2:58—65
- 李 军, 王铁辉, 陆仁后等, 1996b. 逆转录聚合酶链式反应中 dsRNA 模板的快速制备. 青岛海洋大学学报, 26(4):495—499
- 李 军, 王铁辉, 周立冉等, 1997. 应用 RT-PCR 技术对草鱼出血病病鱼组织的初步研究. 水产学报, 21(2):175—179
- 李 军, 王铁辉, 周立冉等, 1998. 两草鱼出血病病毒分离株的比较研究. 中国水产科学, 5(3):115—118
- 杨广志, 罗毅志, 叶雪平, 1991. 葡萄球菌 A 蛋白协同凝集试验快速检测草鱼出血病病毒的研究. 水产学报, 15(1):27—33
- 张念慈, 杨广智, 1986. 草鱼吻端组织细胞株 ZC-7901 及其亚株 ZC-7901S1 的建立. 实验生物学报, 14:101—105
- 张保焰, 柯丽华, 1993. 草鱼出血病病毒基因组体内转录的研究. 中国病毒学, 8(2):185—188
- 陈 延, 王 炜, 柯丽华等, 1992. 草鱼出血病病毒的糖蛋白和结构多肽的抗原性. 病毒学报, 8(1):57—61
- 陈敏容, 陈宏溪, 易咏兰, 1985. 鲫鱼异倍体细胞系的建立及生物学特性. 水产学报, 9(2):121—130
- 陈燕新, 江育林, 1983. 草鱼出血病病毒形态结构及理化性质的研究. 科学通报, 28:1138—1140
- 邵健忠, 毛树坚, 沈一雨等, 1990. 草鱼出血病两种病原病毒的分离和致病性的研究. 杭州大学学报, 17(1):74—79
- 邵健忠, 毛树坚, 1992. 草鱼小 RNA 病毒的核酸和结构多肽分析. 见: 毛树坚等编. 生命科学论文集. 杭州: 杭州大学出版社, 92—99
- 邵健忠, 项黎新, 李亚南等, 1993. 从草鱼细胞分离到一种抗出血病病毒蛋白因子的研究. 病毒学报, 9(4):352—360
- 邵健忠, 项黎新, 李亚南等, 1996. 应用 Dot-ELISA 技术检测草鱼出血病病毒的研究. 水产学报, 20(1):6—11
- 郑崇德, 黄琪琰, 蔡完其等, 1986. 草鱼出血病的组织病理研究. 水产学报, 10(2):151—159
- 柯丽华, 方 勤, 蔡宜权, 1990. 一株新的草鱼出血病病毒分离物的特性. 水生生物学报, 14(2):153—159
- 何丽华, 王 炜, 方 勤等, 1992. 草鱼出血病病毒多肽多其基因组的体外翻译. 病毒学报, 8(2):169—173
- 黄 健, 柯丽华, 蔡宜权等, 1992. 草鱼出血病病毒的 RNA 转录酶活性的研究. 病毒学报, 8(1):50—56
- 曾令兵, 左文功, 1991. 草鱼出血病病毒 854 株基因组 SDS-PAGE 分析及其核酸类型鉴定. 淡水渔业, 5:17—19
- 曾令兵, 贺 路, 1992. 草鱼出血病病毒 854 株的纯化及其理化特性. 淡水渔业, 2:3—5
- 曾令兵, 陈艳红, 胡春生, 1993. 草鱼出血病病毒 854 株在 CIK 细胞系上的繁殖动态的研究. 淡水渔业, 23:18—20
- 湖北省水生生物研究所三室, 1977. 草鱼肠炎病原研究的进展. 水生生物学集刊, 6(2):245—246
- 魏彦章, 陆仁后, 白国栋, 1987. 草鱼尾鳍组织二倍体细胞系 GCCF-2 的建立及其部分生物学特性分析. 水产学报, 11(4):269—276
- Li J, Wang T, Liu H *et al*, 1997. A detection method of haemorrhagic virus of grass carp (GCHV) based on the reverse transcription polymerase chain reaction. Diseases of Aquatic Organisms, 29:7—12
- Wang Tie-hui, Chen Hong-xi, Liu Han-qin *et al*, 1994. Purification of Bemorrhagic Virus of Grass Carp



and the cDNA Synthesis, Cloning and Sequencing of Its Genome. Annual Report of FEBL. Beijing, International Academic Publishers, 153—156

Winton J R, Lannan C N, Fryer J L *et al*, 1987. Morphological and biochemical properties of a novel groupe of reovirus isolated from aquatic animals. *J Gen Virol*, 68: 353—364

## ADVANCES IN RESEARCH OF HEMORRHAGIC VIRUS OF GRASS CARP

LI Jun, WANG Tie-hui, LU Ren-hou, CHEN Hong-xi

(*Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan, 430072*)

**Abstract** In the 1980s' and 1990s progress has been made in the research of grass carp of hemorrhagic virus (GCHV) in China. The most important devances about GCHV in clude: 1) the discovery of GCHV; 2) the morphological, biochemical and ultrastructural characteristics; 3) the characteristics of its genome and encoded peptides; 4) the control ling mechanism of genomic transcription and following translation of the GCHV; 5) the charactesistics of viral proliferation *in vivo* and *in vitro*; 6) the host range and corresponding pathogenesis; and 7) the current strategies on diagnosis and control of GCHV.

**Key words** Grass carp hemorrhagic virus (GCHV) Aquareovirus Research advance

**Subject classification number** S945.1