

张小飞,孙颖杰,贾 贇,等. 牙鲆弹状病毒研究进展[J]. 江苏农业科学,2015,43(1):231-233,241.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.01.079

# 牙鲆弹状病毒研究进展

张小飞<sup>1,2</sup>, 孙颖杰<sup>4</sup>, 贾 贇<sup>2,3</sup>, 林长军<sup>3</sup>, 李 华<sup>1</sup>, 王贞钧<sup>5</sup>, 刘 钊<sup>3</sup>, 张 雪<sup>3</sup>, 栾慎顺<sup>3</sup>

(1. 大连海洋大学, 辽宁大连 116023; 2. 辽宁省检验检疫科学技术研究院, 辽宁大连 116001; 3. 辽宁出入境检验检疫局, 辽宁大连 116001; 4. 四川出入境检验检疫局, 四川成都 610041; 5. 吉林农业大学, 吉林长春 130118)

**摘要:**牙鲆弹状病毒(*Hirame rhabdovirus*, HIRRV)可以引起牙鲆、香鱼等肌肉组织器官及内脏出血,造血器官坏死,给鱼类养殖带来巨大经济损失。HIRRV 具有囊膜,属于弹状病毒科粒外弹状病毒属。病毒基因组为单股负链的RNA,长约11 000 bp,主要包含5个基因,可编码核蛋白(nucleoprotein, N)、磷蛋白(phosphoprotein, P)、基质蛋白(matrix protein, M)、糖蛋白(glycoprotein, G)、依赖RNA的RNA酶(RNA polymerase protein, L)和非结构蛋白(non-structural protein, NV)。本文就目前国内外关于HIRRV的流行特点、生物学特征、分类地位、基因组及其蛋白产物的特征以及检测方法等方面进行了较为全面的概述,旨在为该病的预防、控制以及致病机理方面的研究提供依据。

**关键词:**牙鲆弹状病毒;基因组;编码蛋白;检测方法

**中图分类号:** S941.41 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)01-0231-03

牙鲆弹状病毒(*Hirame rhabdovirus*, HIRRV)为单股负链RNA病毒,是弹状病毒科粒外弹状病毒属新成员,流行病学上表现为低温( $\leq 15\text{ }^{\circ}\text{C}$ )发病,主要感染牙鲆、香鱼,感染鱼其鳍、肌肉组织及内部器官出血,造血器官坏死;人工感染对黑鲷、无备平鲈和虹鳟等海水鱼类或降河洄游鱼类具有强烈致病性,给全球海水养殖业造成了严重的经济损失<sup>[1-2]</sup>。根据《中韩进出口活水生动物检验检疫协议》,进出境的鲈鱼、真鲷、牙鲆、大菱鲆、鲤鱼、鲫鱼等养殖和种苗用鱼种,均要进行HIRRV疫病检测,口岸安全意义重大。国外对HIRRV的研究相对较早,而国内目前研究主要集中在病毒分离、基因组测序和分子诊断方法的建立等方面工作<sup>[1-2]</sup>,研究内容相对局限。本文就目前国内外关于HIRRV的流行特点、生物学特征、分类地位、基因组及其蛋白产物的特征以及检测方法等方面进行了较为全面的概述,旨在为该病的预防、控制以及致病机理方面的研究提供依据。

## 1 发现及流行

1986年,首次在日本兵库县的患病牙鲆和香鱼鱼苗中分离得到HIRRV日本株(8401-H)<sup>[3]</sup>,1987年Sano等在香鱼(*Plecoglossus altivelis*)、黑鲷(*Milio macrocephalus*)、无备平鲈(*Sebastes inermis*)中也发现了HIRRV<sup>[4]</sup>。1997年、2007年又分别在韩国南部海域的牙鲆和中国山东荣成的石鲈幼鱼中发病,并经分离得到HIRRV韩国株(CA-9703)和中国株(SR080113)<sup>[1,5]</sup>。HIRRV主要感染海水鱼,但1992年Oseko

等试验发现HIRRV对部分淡水鱼同样具有致病性<sup>[6]</sup>,不过在淡水鱼养殖方面目前还没有发现该病毒。直到2012年EURL会议(16th Annual Meeting of the National Reference Laboratories for Fish Diseases)报告指出HIRRV在中国淡水鱼养殖中已经广泛传播。2013年Borzym等在欧洲的河鲈鱼(淡水鱼)中分离得到了HIRRV病毒(j. No. 207237),经过测序分析发现欧洲株和中国株P基因的同源性达到99%,L和N基因的同源性在99%以上<sup>[7]</sup>,有学者认为HIRRV欧洲株很可能是通过冷冻食品由中国进入欧洲。

## 2 生物学特征

HIRRV病毒粒子呈弹状,为弹状病毒典型的形态学特征,病毒粒子长160~180 nm,宽60~80 nm。基因组长度约为11 000 bp<sup>[1,5]</sup>,主要与核蛋白(N)结合形成核衣壳,呈螺旋对称,在核衣壳上还结合有少量的聚合酶(L)和磷蛋白(P);囊膜,紧密地包裹着核衣壳,囊膜由脂质和蛋白质组成,其内表面为基质蛋白(M),囊膜上有糖蛋白(G)突起。成熟的病毒粒子通过细胞膜出芽,释放到胞膜外。

该病毒能够在EPC(鲤鱼上皮瘤细胞系)、FHM(肥头鲤细胞系)、CHSE-214(大鳞大马哈鱼胚胎细胞系)、CO(草鱼卵巢细胞系)、CIK(草鱼肾细胞系)、BF-2(蓝鳃鱼幼鱼细胞系)、R1(虹鳟肝细胞系)、SSN-1(纹鳃细胞系)等鱼类细胞上增殖,并出现细胞病变效应(cytopathogenic effect, CPE),其中FHM、EPC、BF-2、CHSE-214最为敏感,最大滴度达到 $10^7$  TCID<sub>50</sub>/100  $\mu\text{L}$ ;该病毒的最适生长温度为20  $^{\circ}\text{C}$ ,仅2 d就能病变完全,而且病毒滴度达到 $10^9$  TCID<sub>50</sub>/100  $\mu\text{L}$ <sup>[8]</sup>。该病毒的感染活性可以被pH值(3.0和9.0)、脂溶剂(三氯甲烷)以及热(56  $^{\circ}\text{C}$ , 30 min)等破坏。

## 3 分类地位

1991年,Nishizawa等发现HIRRV由N、P、M、G、L等5个结构蛋白构成,其蛋白质电泳图谱和狂犬病毒属相似,把

收稿日期:2014-03-21

基金项目:国家自然科学基金(编号:41276174)。

作者简介:张小飞(1990—),女,河南宝丰人,硕士研究生,从事海洋生物疫病研究。Tel:(0411)82583668;E-mail:longlongai3227@163.com。

通信作者:贾 贇,高级兽医师,从事动物传染病检测、防制研究。E-mail:jxy750921@163.com。

HIRRV 归到弹状病毒科的狂犬病毒属<sup>[9]</sup>。直到 1997 年 Kurath 等发现 *G* 基因和 *L* 基因之间存在 *NV* 基因<sup>[10]</sup>;2000 年国际病毒学分类委员会(ICTV)第 7 次报告中,正式把 HIRRV 列为弹状病毒科的一个新属——粒外弹状病毒属<sup>[11]</sup>。粒外弹状病毒属病毒在其糖蛋白和聚合酶蛋白之间均存在一个独特的非结构蛋白,该蛋白存在于受感染的细胞中,但不存在于成熟的病毒粒子中,这也是粒外弹状病毒区别于水疱病毒的一个主要标志<sup>[12]</sup>。

#### 4 基因组及其蛋白产物的特征

##### 4.1 基因组特征

HRV 基因组的测序工作起始于 *P* 和 *M* 基因<sup>[13]</sup>,目前,HIRRV 的全基因组序列已经测定,基因组大小约 11 000 bp<sup>[1,5,14]</sup>,基因组含有 6 个开放阅读框(ORFs),分别编码 6 种蛋白:核蛋白(nucleoprotein, *N*)、磷蛋白(phosphoprotein, *P*)、基质蛋白(matrix protein, *M*)、糖蛋白(glycoprotein, *G*)、依赖 RNA 的 RNA 酶(RNA polymerase protein, *L*)和非结构蛋白(non-virion protein, *NV*) (表 1)<sup>[5]</sup>。



图1 HIRRV 基因组结构

3' end nt 1 - CAUAGUUUUUCAUUGUAUGCGGUUCUGAUC -  
5' end nt 11034 - GUAUAAAAAGGUAACAGAGAGGUUCUGAAGG -

图2 HIRRV 3' 结构和 5' 结构

基因间的连接区内含有高度保守的上游基因和多聚腺苷酸化信号、下游基因转录起始信号以及转录和起始信号间的间隔序列<sup>[16]</sup>。HIRRV 基因间连接区的保守序列为 AGATAG (A)7TGGCAC(N)4GTG<sup>[17-18]</sup>,其中 AGATAG(A)7 为转录终止和多聚腺苷酸化信号;基因间的间隔序列一般只含有 1 个核苷酸(U 或 G)<sup>[19]</sup>,这些调节信号和基因间区域在 HIRRV 和其他粒外弹状病毒属成员之间都是一致的,但区别于弹状病毒科的其他属。

##### 4.2 编码蛋白的特征

*N* 蛋白是病毒粒子中含量最丰富的蛋白,它和病毒 RNA 紧密结合,形成核糖核蛋白体 *N*-RNA 结构,并构成转录和复制的模板,在转录调节中起着重要的作用。

*P* 蛋白是和聚合酶相关的磷酸化蛋白,它与 *N* 蛋白和 *L* 蛋白相互作用,在转录和复制过程中起着关键的作用<sup>[20-21]</sup>。该蛋白根据序列推算的 pI 为 8.68<sup>[18]</sup>,而根据等点聚焦推算出来的 pI 为 7.3~7.4<sup>[22]</sup>,这可能是因为鱼类细胞所产生的蛋白磷酸化程度有关。*P* 蛋白以分子伴侣的形式与 *N* 蛋白结合,阻止 *N* 蛋白自身聚集,从而保证 *N* 蛋白以可溶性的分子存在<sup>[23-25]</sup>,同时也能阻止 *N* 蛋白与非特异性的 RNA 结合<sup>[26]</sup>。

*M* 蛋白在病毒出芽过程中,核衣壳与 *G* 蛋白相互作用,起始病毒的装配。然后与 *M* 蛋白结合形成核衣壳-*M* 蛋白结合物,完成病毒装配,出芽形成子病毒,进而感染其他细胞<sup>[27]</sup>。

表 1 HIRRV 韩国株(CA-9703)基因组中 6 种基因的特征

基因	位置 (bp)	上游非翻译区(nt)	下游非翻译区(nt)	蛋白长度 (aa)	蛋白分子量(ku)
<i>N</i>	62~1 407	55	105	392	42.5
<i>P</i>	1 409~2 179	44	36	227	25.8
<i>M</i>	2 234~2 815	58	53	193	21.6
<i>G</i>	2 882~4 492	35	42	508	56.6
<i>NV</i>	4 494~4 870	0	34	111	12.7
<i>L</i>	4 872~10 961	47	75	1 987	225

注:蛋白长度和蛋白分子量是有开放阅读框直接翻译的推算的蛋白质,没有经过磷酸化或糖基化的转录后修饰。

基因结构是由 3' 端非翻译前导(Leader)区、基因区、基因间连接区及 5' 端非转录拖尾(Trailer)区组成。排列方式为 3' Leader-N-P(M1)-M(M2)-G-NV(非结构蛋白)-L-Trailer 5'(图 1)<sup>[1,5]</sup>。HIRRV 的前导区含有位于 54~60 的多聚腺苷酸化信号(UAUCUUUUUUU),而拖尾区中含有 *L* 基因转录终止和多聚腺苷酸化信号,且基因组 3' 端和 5' 端呈反向互补,这是非节段负链 RNA 病毒的共同特征,可能对平衡病毒的转录和复制过程其重要作用(图 2)<sup>[5,15]</sup>。

*G* 蛋白是病毒的主要抗原,能诱导产生中和抗体和刺激细胞免疫,因此通常选择 *G* 基因作为抗原基因来构建 DNA 疫苗。Yasuike 等比较 HIRRV *G* 蛋白疫苗和 *N* 蛋白疫苗的免疫效果,发现 *G* 蛋白疫苗比 *N* 蛋白疫苗更能引起一系列的免疫反应<sup>[28]</sup>,但是 *G* 蛋白和 *N* 蛋白疫苗的具体免疫机制还不太清楚,有待进一步的研究。

*NV* 蛋白是粒外弹状病毒属所特有的非结构蛋白,仅存在于感染细胞中,不存在于成熟的病毒粒子中。Johnson 等利用反向遗传技术构建 *NV* 基因突变的重组 SHRV 病毒,发现重组的 SHRV 与野生型病毒具有相同的感染力及行态,从而证实了 *NV* 基因对 SHRV 的复制没有重要影响<sup>[29]</sup>。Biacchesi 等将 IHN 病毒 *NV* 基因替换成 *GFP*(绿色荧光蛋白)或 *CAT*(氯霉素乙酰转移酶)基因,病毒的复制不受影响<sup>[30]</sup>。有学者认为 *NV* 基因并不是病毒在细胞的生长过程中所必须的,同时对病毒在体内的致病性也不起重要作用<sup>[31]</sup>。例如,Chiou 等在 2000 年首次发现 *NV* 基因在细胞培养过程中与细胞病变(使细胞变圆)相关<sup>[32]</sup>。最近也有研究表明 IHN 的 *NV* 基因对 IHN 在细胞中的最佳复制起着关键的生物作用,同时与 IHN 的致病性有关<sup>[33]</sup>,但有关 *NV* 蛋白的具体作用尚有待进一步深入的研究。

*L* 蛋白病毒最大的结构蛋白,也是病毒 RNA 依赖的 RNA 聚合酶,具有多种酶活性,包括核苷酸聚合活性、甲基化转移酶和鸟苷转移酶活性、以及多聚腺苷酸转移酶活性等。

## 5 牙鲆弹状病毒检测方法

目前,病毒的检测方法主要有三大类,分别是细胞学诊断技术、免疫学诊断技术、分子生物学诊断技术,其中细胞学诊断技术主要包括细胞培养分离病毒、组织病理切片及电镜观察,其操作复杂、检测周期长且灵敏度低。免疫学诊断技术主要包括免疫荧光检测、免疫斑点印迹杂交,其方法具有特异性高、灵敏度强等特点,但是过程也相当复杂,不适宜对大量样品的检测。分子生物学诊断技术主要包括聚合酶链式反应(PCR)、实时定量 RT-PCR、环介导的恒温扩增技术(LAMP),利用该技术鉴定病原具有快速、准确、灵敏度高等优点,目前应用较为广泛,如孙颖杰等根据 G 蛋白的序列建立了检测 HIRRV 的 RT-PCR、实时定量-PCR、LAMP 方法<sup>[34]</sup>。

## 参考文献:

- [1] Sun YJ, Liu H, Yue Z Q et al. Analysis and characterization of the complete genomic sequence of the Chinese strain of *Hirame rhabdovirus* [J]. *Journal of Fish Diseases*, 2011, 34(2): 167-171.
- [2] Sun Y J, Yue Z Q, Liu H, et al. Development and evaluation of a sensitive and quantitative assay for *Hirame rhabdovirus* based on quantitative RT-PCR [J]. *Journal of Virological Methods*, 2010, 169(2): 391-396.
- [3] Kimura T, Yoshimizu M, Gorie S. A new rhabdovirus isolated in Japan from cultured hiramé (Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* and ayu (*Plecoglossus altivelis*) [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1986, 10(1): 209-217.
- [4] Sano T, Fukuda H. Principal microbial diseases of mariculture in Japan [J]. *Aquaculture*, 1987, 67(1/2): 59-69.
- [5] Kim D H, Oh H K, Eou J I, et al. Complete nucleotide sequence of the hiramé rhabdovirus, a pathogen of Marine fish [J]. *Virus Research*, 2005, 107(1): 1-9.
- [6] Oseko, Norihisa, Yoshimizu, et al. Pathogenicity of rhabdovirus olivaceus (hirame rhabdovirus; HRV) for salmonid fish [J]. *Oji International Symposium on Salmonid Diseases*, 1992(1): 80-87.
- [7] Borzym E, Matras M, Maj - Paluch J, et al. First isolation of hiramé rhabdovirus from freshwater fish in Europe [J]. *Journal of Fish Diseases*, 2014, 37(5): 423-430.
- [8] 孙颖杰, 江育林, 刘 荻, 等. 石斑鱼鱼苗中一种弹状病毒的分离与鉴定 [J]. *中国兽医学报*, 2009, 29(3): 277-282.
- [9] Nishizawa T, Yoshimizu M, Winton J, et al. Characterization of structural proteins of hiramé rhabdovirus [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 1991, 10: 167-172.
- [10] Kurath G, Higman K H, Björklund H V. Distribution and variation of NV genes in fish rhabdoviruses [J]. *The Journal of General Virology*, 1997, 78: 113-117.
- [11] van Regenmortel M V, Fauquet C M, Bishop D L, et al. *Virus taxonomy*; seventh report of the international committee on taxonomy of viruses [M]. New York: Academic Press, 2000: 563-583.
- [12] Johnson M C, Maxwell J M, Loh P C, et al. Molecular characterization of the glycoproteins from two warm water rhabdoviruses: snakehead rhabdovirus (SHRV) and rhabdovirus of penaeid shrimp (RPS)/spring viremia of carp virus (SVCV) [J]. *Virus Research*, 1999, 64(2): 95-106.
- [13] Nishizawa T, Kurath G, Winton J R, et al. Nucleotide sequence of the 2 matrix protein genes (*M1* and *M2*) of hiramé rhabdovirus, a fish rhabdovirus [J]. *Vet Res*, 1995, 26(2): 408-412.
- [14] Nishizawa T, Yoshimizu M, Winton J, et al. Comparison of genome size and synthesis of structural protein of hiramé rhabdovirus, infectious hematopoietic necrosis virus, and viral hemorrhagic septicemia virus [J]. *Fish Pathology*, 1991, 26: 77-78.
- [15] Conzelmann K K. Nonsegmented negative-strand RNA viruses: Genetics and manipulation of viral genomes [J]. *Annual Review of Genetics*, 1998, 32(1): 123-162.
- [16] Heaton L A, Hillman B I, Hunter B G, et al. Physical map of the genome of sonchus yellow net virus, a plant rhabdovirus with six genes and conserved gene junction sequences [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1989, 86(22): 8665-8668.
- [17] Björklund H V, Higman K H, Kurath G. The glycoprotein genes and gene junctions of the fish rhabdoviruses spring viremia of carp virus and hiramé rhabdovirus: analysis of relationships with other rhabdoviruses [J]. *Virus Research*, 1996, 42(1/2): 65-80.
- [18] Nishizawa T, Kurath G, Winton J R. Sequence analysis and expression of the *M1* and *M2* matrix protein genes of Hiramé rhabdovirus (HIRRV) [J]. *Dis Aquat Org*, 1997, 31(1): 9-17.
- [19] Björklund H V, Higman K H, Kurath G. The glycoprotein genes and gene junctions of the fish rhabdoviruses spring viremia of carp virus and hiramé rhabdovirus: analysis of relationships with other rhabdoviruses [J]. *Virus Research*, 1996, 42(1/2): 65-80.
- [20] Banerjee A K. Transcription and replication of rhabdoviruses [J]. *Microbio. Rev.*, 1987, 51(1): 66-87.
- [21] Banerjee A K. The transcription complex of vesicular stomatitis virus [J]. *Cell*, 1987, 48(3): 363-364.
- [22] Nishizawa T, Yoshimizu M, Winton J, et al. Comparison of structural protein on fish rhabdoviruses [J]. *Proceedings of the OJI International Symposium Diseases*, 1992, 72-79.
- [23] Majumdar A, Basak S, Raha T, et al. Effect of osmolytes and chaperone-like action of P-protein on folding of nucleocapsid protein of Chandipura virus [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(33): 30948-30955.
- [24] Majumdar A, Bhattacharya R, Basak S, et al. P-Protein of Chandipura virus is an N-protein-specific chaperone that acts at the nucleation stage [J]. *Biochemistry*, 2004, 43(10): 2863-2870.
- [25] Mavrakīs M, Méhouas S, Réal E, et al. Rabies virus chaperone: identification of the phosphoprotein peptide that keeps nucleoprotein soluble and free from non-specific RNA [J]. *Virology*, 2006, 349(2): 422-429.
- [26] Masters P S, Banerjee A K. Complex formation with vesicular stomatitis virus phosphoprotein NS prevents binding of nucleocapsid protein N to nonspecific RNA [J]. *Journal of Virology*, 1988, 62(8): 2658-2664.
- [27] Sehutze H, Mundt E, Mettenlaier T C. Complete genomes queen of viral haemorrhagic septicaemia virus, a fish rhabdovirus [J]. *Virus Genes*, 1999, 19(1): 59-65.
- [28] Yasuie M, Kondo H, Hirono I, et al. Gene expression profile of HIRRV G and N protein gene vaccinated Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* during HIRRV infection [J]. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases*, 2011, 34(2): 103-110.

胰脏中脂肪酶、胰蛋白酶、酸性磷酸酶活性在高浓度  $\text{NiSO}_4$  胁迫下明显减弱,说明高浓度  $\text{NiSO}_4$  超出了肝胰脏本身的解毒能力,极大地抑制了脂肪酶、胰蛋白酶、酸性磷酸酶的活性。Glzar 等研究发现,高浓度铅会明显抑制罗非鱼碱性磷酸酶活性<sup>[8]</sup>,本试验结果与其相似;孔祥会等研究发现,高浓度汞会明显抑制肝胰脏碱性磷酸酶活性<sup>[4]</sup>。

肠为鱼类重要的消化器官,肠道的健康、酶的工作状态都关系到鱼的正常生长和发育。肠道是鱼类疾病传染的重要途径之一,肠道功能的下降会导致整个机体的健康水平下降,对营养物质的吸收能力也会下降,使大量营养物质流入水体,造成整个水体的健康水平下降,使鱼类的传染病经常发生,严重影响鱼类的生存,对整个鱼类养殖具有严重的破坏作用。

脂肪酶和胰蛋白酶为肠中重要的消化酶,脂肪酶活性的减弱对整个机体的影响是巨大的。脂肪酶是鱼肠中重要的消化酶,对鱼类营养物质的吸收有至关重要的作用<sup>[9-11]</sup>。ACP 和 AKP 在蛋白(酶)的去磷化过程中起了很大的作用,在生物对营养物质的吸收消化和运输<sup>[12]</sup>中也起重要作用,此外还是生物体内重要的解毒体系<sup>[13]</sup>。研究  $\text{Ni}^{2+}$  对脂肪酶、胰蛋白酶、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶的影响,有助于了解  $\text{Ni}^{2+}$  对鲫鱼肠中酶以及鲫鱼生长发育的影响,可作为水源镍污染监测的一种生物学指标。

本试验结果表明,鲫鱼肠中胰蛋白酶、脂肪酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶的活性都随着  $\text{NiSO}_4$  浓度的增加而呈先增强后减弱的趋势。当  $\text{NiSO}_4$  浓度为 0~50 mg/L 时,胰蛋白酶、脂肪酶、碱性和酸性磷酸酶均呈增强趋势,说明该浓度的  $\text{NiSO}_4$  对酶具有激活作用;但当  $\text{NiSO}_4$  浓度为 50~100 mg/L 时,各酶的活性则呈减弱的趋势,表明对各酶的活性产生了抑制作用。还有其他类似的试验均得出了“酶活性随着浓度的增加呈先增强后减弱”的结论,例如, $\text{NiSO}_4$  对大鼠心肝肾 ATPase 毒性的试验研究<sup>[14]</sup>、铅对鲫鱼酸性磷酸酶、碱性磷酸酶的影响<sup>[7]</sup>、镍及其化合物对人和动物的毒性作用<sup>[15]</sup>、重金属 Cd 胁迫对红树蚬的抗氧化酶、消化酶活性和 MDA 含量影响<sup>[16]</sup>等。由此可见,低浓度  $\text{NiSO}_4$  对胰蛋白酶、脂肪酶、ACP 和 AKP 具有不同程度的激活作用,高浓度  $\text{NiSO}_4$  对其具有抑制作用。结合相关文献可知,可能是因为低浓度  $\text{NiSO}_4$  会改变酶的分子结构,使酶活性增强;高浓度  $\text{NiSO}_4$  会破坏酶的结构,使酶的活性受到抑制。其中, $\text{NiSO}_4$  对脂肪酶、胰蛋白酶和 AKP 的影响极显著( $P < 0.01$ ),对其的毒性作用很大;对酸性磷酸酶的影响较小。目前还没有人研究过镍对鲫鱼肠胰蛋白酶、脂肪酶、ACP 和 AKP 的影响,因此笔者通过研究  $\text{NiSO}_4$  对鲫鱼肠

酶的影响,以期对鲫鱼的养殖和保护以及水域的污染状况提供更多的资料。

#### 参考文献:

- [1] 刚葆琪,庄志雄. 我国镍毒理学研究进展[J]. 卫生毒理学杂志, 2000, 14(3): 129-135.
  - [2] 田宏杰,庄平,高露姣. 生态因子对鱼类消化酶活力影响的研究进展[J]. 海洋渔业, 2006, 28(2): 158-162.
  - [3] Zheng G H, Liu C M, Sun J M, et al. Nickel-induced oxidative stress and apoptosis in *Carassius auratus* liver by JNK pathway[J]. Aquatic Toxicology, 2014, 147: 105-111.
  - [4] 孔祥会,刘占才,郭彦玲,等. 汞暴露对草鱼器官组织中碱性磷酸酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2007, 14(2): 270-274.
  - [5] 贾秀英,陈志伟. 镉对鲤鱼磷酸酶活性的影响[J]. 上海环境科学, 1998, 17(6): 40-41.
  - [6] 黄雪琴,龙玉博. 镉对虹鳟 *Corbicula fluminalis* (Muller) 碱性磷酸酶的影响[J]. 福建师范大学学报:自然科学版, 1995, 11(2): 74-78.
  - [7] 高举,赵欣平,詹付凤,等. 铅对鲫鱼碱性磷酸酶和酸性磷酸酶活性的影响[J]. 四川动物, 2008, 27(2): 201-204.
  - [8] Glzar A, Mustafa C. Enzymatic responses to metal exposures in a freshwater fish *Oreochromis niloticus* [J]. Comp Biochem Physiol C, 2007, 145(2): 282-287.
  - [9] 高贵,韩四平,王智,等. 脂肪酶活力检测方法的比较[J]. 药物生物技术, 2002, 9(5): 281-284.
  - [10] 宋波澜,陈刚,叶富良,等. 军曹鱼幼鱼脂肪酶的活力与环境因子的关系[J]. 暨南大学学报:自然科学与医学版, 2007, 28(5): 531-536.
  - [11] 洪法水,王玲,吴康,等.  $\text{Pb}^{2+}$  对胰蛋白酶活性影响的作用机理研究[J]. 无机化学学报, 2003, 19(2): 129-132.
  - [12] 何海琪,孙凤. 中国对虾酸性和碱性磷酸酶的特性研究[J]. 海洋与湖沼, 1992, 23(5): 555-560.
  - [13] 詹付凤,赵欣平. 重金属镉对鲫鱼碱性磷酸酶和酸性磷酸酶活性的影响[J]. 四川动物, 2007, 26(3): 641-643.
  - [14] 孙应彪,朱玉真. 硫酸镍对大鼠心肝肾 ATPase 毒性的实验研究[J]. 中国职业医学, 2001, 28(3): 27-28.
  - [15] 蔡跃华. 镍及其化合物对人和动物的毒性作用[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(4): 192-193, 174.
  - [16] 赖廷和,何斌源,范航清,等. 重金属 Cd 胁迫对红树蚬的抗氧化酶、消化酶活性和 MDA 含量的影响[J]. 生态学报, 2011, 31(11): 3044-3053.
- (上接第 233 页)
- [29] Johnson M C, Simon B E, Kim C H, et al. Production of recombinant snakehead rhabdovirus; the NV protein is not required for viral replication[J]. Journal of Virology, 2000, 74(5): 2343-2350.
  - [30] Biacchesi S, Thoulouze M I, Béarzotti M, et al. Recovery of NV knockout infectious hematopoietic necrosis virus expressing foreign genes[J]. Journal of Virology, 2000, 74(23): 11247-11253.
  - [31] Eerick R P, Batts W N, Yun S, et al. Host and geographic range extensions of the North American strain of viral hemorrhagic septicemia virus [J]. Diseases of Aquatic Organisms, 2003, 55(3): 211-220.
  - [32] Chiou P P, Kim C H, Ormonde P, et al. Infectious hematopoietic necrosis virus matrix protein inhibits host-directed gene expression and induces morphological changes of apoptosis in cell cultures[J]. Journal of Virology, 2000, 74(16): 7619-7627.
  - [33] Thoulouze M I, Bouguyon E, Carpentier C, et al. Essential role of the NV protein of Novirhabdovirus for pathogenicity in rainbow trout [J]. Journal of Virology, 2004, 78(8): 4098-4107.
  - [34] 孙颖杰,岳志芹,刘荻,等. 牙鲆弹状病毒环介导的等温扩增技术的建立与应用[J]. 华中农业大学学报, 2010, 29(2): 203-207.