

网络出版日期: 2017-08-18

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1220.S.20170818.0938.004.html>

水体理化因子对感染 WSSV 凡纳滨对虾存活时间的综合影响

黄海洪¹, 曾丽娟¹, 李朝云², 刘小林³, 张运生¹,
类延菊¹, 杨品红¹, 罗玉双¹

(1. 湖南文理学院 生命科学学院, 水产高效健康生产湖南省协同创新中心, 环洞庭湖水产健康养殖及加工湖南省重点实验室,
湖南省高校动物学重点实验室, 湖南常德 415000; 2. 孟津县畜牧局, 河南孟津 471100;
3. 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西杨凌 712100)

摘要 对文献报道的单因子试验数据进行挖掘, 收集盐度、 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 、pH、WSSV 注射量等 5 个因子对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)发病后存活时间影响的独立试验数据, 重新整理后进行多因素方差分析和多元回归分析。结果显示, 盐度、pH 和 WSSV 注射量对凡纳滨对虾存活时间的影响极显著, NH_4^+-N 和 NO_2^--N 的影响不明显, 与文献报道的单因子试验结果一致。多元回归分析结果显示, pH 和 WSSV 注射量与凡纳滨对虾存活时间的相关性极显著, 回归方程为“ $Y(\text{存活时间}) = 827.6 - 57.5X_1(\text{pH}) - 0.045X_2(\text{WSSV 注射量})$ ”, $R=0.820$, 其他 3 个因子的影响与凡纳滨对虾存活时间的线性关系均不明显。利用单因子数据综合分析的结果与文献报道的多因素试验结果一致, 表明对文献数据进行综合分析的方法可行, 为凡纳滨对虾疾病综合防控研究提供新的思路。

关键词 凡纳滨对虾; 白斑病毒(WSSV); 水体理化因子; 多因素方差分析; 多元回归分析

中图分类号 S945.1

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2017)08-1123-07

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*), 俗称南美白对虾, 在世界各地被广泛养殖。该品种于 1988 年引入中国, 现已成为海、淡水第一大对虾养殖品种^[1], 2014 年产量达 158 万 t, 约占中国虾类养殖总产量的 53.9%^[2], 是中国居民优质食物蛋白摄取的重要来源之一。但是, 在凡纳滨对虾养殖快速发展的同时, 也伴随着许多问题, 其中尤以疾病问题最为严重。据估计, 凡纳滨对虾养殖业由疾病造成的经济损失全球每年可高达 10 亿美元^[3]。中国也经历类似的情况, 随着养殖密度越来越高, 养殖水环境持续恶化, 病毒病和细菌病, 如白斑病毒(WSSV)病和弧菌病, 严重威胁着对虾的健康和品质, 已经成为困扰凡纳滨对虾养殖业健康发展最为突出的问题^[1,4-6]。

何建国等^[7]发现, WSSV 在对虾体内由潜伏感染转为急性感染与环境因子有关, 对虾在低盐、低 NH_4^+-N 、低 NO_2^--N 的条件下, 体内潜伏病毒数会减少, 更不易暴发白斑综合症。他们还发现不同理化因子对对虾疾病感染具有协同作用, 如 pH 和 NH_4^+-N 的协同作用可显著提高斑节对虾

杆状病毒(Penaeusmonodon Baculovirus, MBV)的感染度。但是, 到目前为止, 对理化因子与对虾疾病感染的关系仍以研究单因子的影响为主^[8-11], 不同因子的多因素影响试验还比较少, 而且研究单因子影响的试验多采用正交方法设计^[12-13], 往往忽略因子间的协同作用或交互作用, 不能准确、全面地了解多种理化因子的影响^[14]。

但是, 水体理化因子众多, 关系复杂, 开展多因素试验比较困难。本文对文献报道的单因子试验数据进行收集并重新整理, 利用统计软件进行多因素分析, 再与文献中多因素试验的分析结果进行比较, 探讨文献数据再利用的可行性, 充分挖掘和利用文献数据, 减少重复研究, 以期对凡纳滨对虾疾病综合防控研究提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 试验方案

陈勇贵等^[13]利用正交试验表, 研究海水盐度、 NH_4^+-N 、 NO_2^--N 、pH 及 WSSV 注射量等 5 个因子对凡纳滨对虾存活时间的影响; 陈勇贵^[8]

收稿日期: 2016-04-29 修回日期: 2016-06-21

基金项目: 湖南文理学院博士科研启动、支撑项目(15BSQD06); 西北农林科技大学试验示范站(基地)科技创新与成果转化(XNY2013-4); 湖南文理学院大学生创新创业研究(ZC1525); 湖南省重点学科建设。

第一作者: 黄海洪, 男, 博士, 讲师, 研究方向为水质生态调控与疾病防控。E-mail: shinkhanh@nwsuaf.edu.cn

也分别研究这 5 个因子对凡纳滨对虾存活时间的影响。本研究是对陈勇贵^[8]的单因子试验数据进行合并、整理,再利用 SPSS 软件进行多因素方差分析和多元回归分析,最后与陈勇贵等^[13]的多因素正交试验结果进行比较,讨论文献数据综合利用的可行性。

1.2 数据收集与整理

1.2.1 数据整理 陈勇贵^[8]单因子试验包括 4 个独立的试验,均使用同来源的海水和对虾,海水盐度为 31.0‰,NH₄⁺-N 0.05 mg/L,NO₂⁻-N 0.011 mg/L,pH 7.94,对虾平均体长(6.7±

0.60) cm,平均体质量(3.49±0.991) g。

每个单因子试验只改变所考查因素的水平,海水的其他条件不变,设定的水平如下:盐度试验为 10.0‰、20.0‰、31.0‰(天然海水盐度)和 40.0‰,NH₄⁺-N 试验为 0.05(天然海水质量浓度)、10.00、20.00 和 30.00 mg/L,NO₂⁻-N 试验为 0.011(天然海水质量浓度)、10.00、20.00 和 30.00 mg/L,pH 试验为 5.00、6.00、7.00、7.94(天然海水 pH)和 9.00。将 4 个单因子独立试验的数据进行归纳、整理(表 1)。

表 1 不同盐度、NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、pH 及 WSSV 注射量条件下凡纳滨对虾的存活时间

Table 1 The survival time of *L. vannamei* under different salinity, NH₄⁺-N, NO₂⁻-N, pH and WSSV copies

因素水平 Factors level				WSSV 注射量/ Copies WSSV injected	平均存活 时间/h Mean survival time	平均存活时间校正 Modification of meansurvival time			
盐度/‰ Salinity	NH ₄ ⁺ -N/ (mg/L)	NO ₂ ⁻ -N/ (mg/L)	pH			试验时长/h Duration	校准时长/h Standard duration	死亡率/% Cumulative mortality	校正平均存活时间/h Modified meansurvival time
10.0	0.05	0.011	7.94	6 450	93.4	280.3	435.3	100	93.4
10.0	0.05	0.011	7.94	6 450	84.9	280.3	435.3	100	84.9
10.0	0.05	0.011	7.94	6 450	85.7	280.3	435.3	100	85.7
10.0	0.05	0.011	7.94	0	280.3	280.3	435.3	0	435.3
20.0	0.05	0.011	7.94	6 450	82.8	280.3	435.3	100	82.8
20.0	0.05	0.011	7.94	6 450	67.1	280.3	435.3	100	67.1
20.0	0.05	0.011	7.94	6 450	73.3	280.3	435.3	100	73.3
20.0	0.05	0.011	7.94	0	280.3	280.3	435.3	0	435.3
31.0	0.05	0.011	7.94	6 450	78.9	280.3	435.3	100	78.9
31.0	0.05	0.011	7.94	6 450	84.3	280.3	435.3	100	84.3
31.0	0.05	0.011	7.94	6 450	68.1	280.3	435.3	100	68.1
31.0	0.05	0.011	7.94	0	280.3	280.3	435.3	0	435.3
40.0	0.05	0.011	7.94	6 450	79.6	280.3	435.3	100	79.6
40.0	0.05	0.011	7.94	6 450	69.0	280.3	435.3	100	69.0
40.0	0.05	0.011	7.94	6 450	71.5	280.3	435.3	100	71.5
40.0	0.05	0.011	7.94	0	163.3	280.3	435.3	66.7	214.9
31.0	0.05	0.011	7.94	6 450	59.7	206.0	435.3	100	59.7
31.0	0.05	0.011	7.94	6 450	66.4	206.0	435.3	100	66.4
31.0	0.05	0.011	7.94	6 450	71.1	206.0	435.3	100	71.1
31.0	0.05	0.011	7.94	0	206.0	206.0	435.3	0	435.3
31.0	10.00	0.011	7.94	6 450	70.3	206.0	435.3	100	70.3
31.0	10.00	0.011	7.94	6 450	64.1	206.0	435.3	100	64.1
31.0	10.00	0.011	7.94	6 450	62.9	206.0	435.3	100	62.9
31.0	10.00	0.011	7.94	0	206.0	206.0	435.3	0	435.3
31.0	20.00	0.011	7.94	6 450	52.7	206.0	435.3	100	52.7
31.0	20.00	0.011	7.94	6 450	59.5	206.0	435.3	100	59.5
31.0	20.00	0.011	7.94	6 450	69.7	206.0	435.3	100	69.7
31.0	20.00	0.011	7.94	0	206.0	206.0	435.3	0	435.3
31.0	30.00	0.011	7.94	6 450	58.6	206.0	435.3	100	58.6

(续表 1 Continued table 1)

因素水平 Factors level				WSSV 注射量/ Copies WSSV injected	平均存活 时间/h Mean survival time	平均存活时间校正 Modification of meansurvival time			
盐度/‰ Salinity	NH ₄ ⁺ -N/ (mg/L)	NO ₂ ⁻ -N/ (mg/L)	pH			试验时长/h Duration	校准时长/h Standard duration	死亡率/% Cumulative mortality	校正平均存活时间/h Modified meansurvival time
31.0	30.00	0.011	7.94	6 450	54.2	206.0	435.3	100	54.2
31.0	30.00	0.011	7.94	6 450	67.1	206.0	435.3	100	67.1
31.0	30.00	0.011	7.94	0	206.0	206.0	435.3	0	435.3
31.0	0.05	0.011	7.94	6 450	80.5	278.0	435.3	100	80.5
31.0	0.05	0.011	7.94	6 450	79.8	278.0	435.3	100	79.8
31.0	0.05	0.011	7.94	6 450	84.1	278.0	435.3	100	84.1
31.0	0.05	0.011	7.94	0	278.0	278.0	435.3	0	435.3
31.0	0.05	10.00	7.94	6 450	77.9	278.0	435.3	100	77.9
31.0	0.05	10.00	7.94	6 450	74.6	278.0	435.3	100	74.6
31.0	0.05	10.00	7.94	6 450	70.8	278.0	435.3	100	70.8
31.0	0.05	10.00	7.94	0	278.0	278.0	435.3	0	435.3
31.0	0.05	20.00	7.94	6 450	75.3	278.0	435.3	100	75.3
31.0	0.05	20.00	7.94	6 450	77.5	278.0	435.3	100	77.5
31.0	0.05	20.00	7.94	6 450	88.9	278.0	435.3	100	88.9
31.0	0.05	20.00	7.94	0	278.0	278.0	435.3	0	435.3
31.0	0.05	30.00	7.94	6 450	76.9	278.0	435.3	100	76.9
31.0	0.05	30.00	7.94	6 450	74.0	278.0	435.3	100	74.0
31.0	0.05	30.00	7.94	6 450	77.1	278.0	435.3	100	77.1
31.0	0.05	30.00	7.94	0	278.0	278.0	435.3	0	435.3
31.0	0.05	0.011	5.00	6 450	371.9	435.3	435.3	22.2	371.9
31.0	0.05	0.011	5.00	6 450	324.6	435.3	435.3	33.3	324.6
31.0	0.05	0.011	5.00	6 450	365.9	435.3	435.3	25	365.9
31.0	0.05	0.011	5.00	0	331.8	435.3	435.3	25	331.8
31.0	0.05	0.011	6.00	6 450	186.2	435.3	435.3	77.8	186.2
31.0	0.05	0.011	6.00	6 450	108.3	435.3	435.3	90.9	108.3
31.0	0.05	0.011	6.00	6 450	166.3	435.3	435.3	77.8	166.3
31.0	0.05	0.011	6.00	0	406.3	435.3	435.3	10	406.3
31.0	0.05	0.011	7.00	6 450	53.8	435.3	435.3	100	53.8
31.0	0.05	0.011	7.00	6 450	54.6	435.3	435.3	100	54.6
31.0	0.05	0.011	7.00	6 450	65.4	435.3	435.3	100	65.4
31.0	0.05	0.011	7.00	0	402.2	435.3	435.3	9.1	402.2
31.0	0.05	0.011	7.94	6 450	206.1	435.3	435.3	77.8	206.1
31.0	0.05	0.011	7.94	6 450	261.9	435.3	435.3	55.6	261.9
31.0	0.05	0.011	7.94	6 450	196.1	435.3	435.3	66.7	196.1
31.0	0.05	0.011	7.94	0	435.3	435.3	435.3	0	435.3
31.0	0.05	0.011	9.00	6 450	10.4	435.3	435.3	100	10.4
31.0	0.05	0.011	9.00	6 450	14.9	435.3	435.3	100	14.9
31.0	0.05	0.011	9.00	6 450	25.1	435.3	435.3	100	25.1
31.0	0.05	0.011	9.00	0	5.1	435.3	435.3	100	5.1

1.2.2 数据标准化 陈勇贵^[8]虽然没有单独研究 WSSV 注射量对凡纳滨对虾存活时间的影响,但每个单因子试验均设有试验组和对照组,试验组注射量均为每尾对虾 6 450 拷贝数 WSSV,对

照组均注射 PBS,即 WSSV 注射量为 0。因此,本研究将 WSSV 注射量整理为 2 个水平,即 6 450 拷贝数和 0 拷贝数(表 1)。

陈勇贵^[8]实施的 4 个单因子试验的时长不一

致,分别为盐度试验 280.3 h, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 试验 206 h, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 试验 278 h, pH 试验 435.3 h。为便于比较,本文以 pH 试验时长 435.3 h 为校准时长,对平均存活时间进行校正,得到校正后平均存活时间(表 1)。平均存活时间的校准公式推导如下:

假设试验时长为 t_e , 试验对虾数量为 n , 死亡率为 m , 死亡对虾的平均存活时间为 t_d , 对虾最终存活数量为 s , 那么对虾死亡率(m)和平均存活时间(t_0)计算公式为:

$$m = \frac{n-s}{n} = 1 - \frac{s}{n} \text{ 或者 } \frac{s}{n} = 1 - m$$
$$t_0 = \frac{\text{总存活时间}}{\text{对虾数据}} = \frac{s \times t_e + (n-s) \times t_d}{n} = (1 - m) \times t_e + m \times t_d$$

则 $t_d = \frac{t_0 - (1 - m) \times t_e}{m}$

假设试验时长由 t_e 变为校准时长 t_s , 那么平均存活时间(t_m)计算公式为:

$$t_m = \frac{\text{总存活时间}}{\text{对虾数据}} = \frac{s \times t_s + (n-s) \times t_d}{n} = (1 - m) \times t_s + m \times t_d$$

将 t_d 计算公式代入,可得平均存活时间的校准公式为:

$$t_m = t_0 + (1 - m) \times (t_s - t_e)$$

其中 t_m 为校正后平均死亡时间, t_0 为平均存活时间, m 为死亡率, t_s 为校准时长, t_e 为原始试验时长。

表 2 盐度、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、pH 和 WSSV 注射量对凡纳滨对虾存活时间影响的多因素方差分析

Table 2 Multivariate analysis of variance of effects of salinity, $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$, pH and WSSV copies on survival time of *L. vannamei* injected with WSSV

因素 Factor	平方和 Sum of squares	自由度 <i>df</i>	均方 Mean Square	F 值 F-value	显著性 Sig.
盐度 Salinity	40 641.242	3	13 547.081	9.522	<0.001
$\text{NH}_4^+\text{-N}$	3 139.320	3	1 046.440	0.735	0.537
$\text{NO}_2^-\text{-N}$	1 538.169	3	512.723	0.360	0.782
pH	207 111.872	4	51 777.968	36.392	<0.001
WSSV 注射量 WSSV copies	267 964.167	1	267 964.167	188.340	<0.001
盐度×WSSV 注射量 Salinity × WSSV copies	24 785.036	3	8 261.679	5.807	0.002
$\text{NH}_4^+\text{-N}$ ×WSSV 注射量 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ × WSSV copies	3 139.320	3	1 046.440	0.735	0.537
$\text{NO}_2^-\text{-N}$ ×WSSV 注射量 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ × WSSV copies	1 538.169	3	512.723	0.360	0.782
pH×WSSV 注射量 pH × WSSV copies	128 157.642	4	32 039.411	22.519	<0.001
误差 Error	56 910.850	40	1 422.771		
总和 Total	734 925.787	67			

1.3 数据分析

采用 SPSS 22.0(SPSS Inc)软件对数据进行统计分析。多因素方差分析多重比较采用 Tukey HSD 方法,多元回归分析采用逐步线性回归方法。

2 结果与分析

2.1 多因素方差分析

差异性分析结果显示,多因素方差分析结果差异极显著, $F=39.562, P<0.001$ 。分析结果表明,按均方大小,5 个因素对凡纳滨对虾存活时间的影响顺序为 WSSV 注射量 > pH > 盐度 > $\text{NH}_4^+\text{-N}$ > $\text{NO}_2^-\text{-N}$, 其中盐度、pH 和 WSSV 注射量的效应达到极显著 ($F=9.522, P<0.01; F=36.392, P<0.01; F=188.340, P<0.01$), $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的效应不显著 ($F=0.735, P=0.537; F=0.360, P=0.782$) (表 2)。

分析结果还显示, WSSV 注射量与其他因子,如盐度、pH、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 均具有交互作用。其中,与盐度和 pH 的交互作用均极显著 ($P<0.01$),而与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的交互作用均不显著 ($P=0.537, P=0.782$)。而且, WSSV 注射量与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 交互作用的均方与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 各自的均方相等,说明 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 对凡纳滨对虾存活时间的影响主要来自注射的 WSSV。

NH_4^+-N 和 NO_2^--N 对凡纳滨对虾存活时间的影响组内效应不显著 ($P=0.816$ 、 $P=0.989$), 而盐度和 pH 2 个因素的影响组内效应均显著。盐度 40.0‰ 与 31.0‰ 的影响差异极显著 ($P<0.01$), 与 10.0‰ 和 20.0‰ 的影响差异均不显著 ($P=0.079$ 、 $P=0.172$), 盐度 10.0‰、20.0‰、31.0‰ 的影响之间差异也不显著 ($P=0.965$)。pH 6.00、7.00 和 7.94 的影响之间差异不显著 ($P=0.191$), 但均与 pH 5.00 和 9.00 的影响差异极显著 ($P<0.01$)。

2.2 多元回归分析

多元线性回归分析结果显示, 只有 pH 和 WSSV 注射量与凡纳滨对虾存活时间的相关系数达到极显著水平 ($P<0.001$), 盐度、 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 与凡纳滨对虾存活时间的相关系数均不显著 ($P=0.383$ 、 0.357 、 0.462), 说明 5 个因子中只有 pH 和 WSSV 注射量与凡纳滨对虾存活时间存在显著的线性关系, 盐度、 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 与凡纳滨对虾存活时间均不存在显著的线性关系。尤其是盐度, 虽然方差分析显示其对凡纳滨对虾存活时间具有显著的影响 (表 2), 但两者的相关关系并不是线性的, 因此回归分析的结果不显著。

最后, 建立 pH 和 WSSV 注射量与凡纳滨对虾存活时间关系的模型。该模型经方差分析 ($F=46.012$, $P<0.001$), 表明 pH 和 WSSV 注射量与凡纳滨对虾存活时间具有线性关系。经逐步线性回归分析, pH 和 WSSV 注射量与凡纳滨对虾存活时间回归方程如下:

$$Y=827.6-57.5X_1-0.045X_2(R=0.820)$$

式中 Y 为凡纳滨对虾平均存活时间, X_1 为 pH, X_2 为 WSSV 注射量。该模型的适用范围为试验时长 0~435.3 h, pH 5.00~9.00, WSSV 注射量为每尾虾 0~6 450 拷贝数, 盐度 10.0‰~40.0‰, NH_4^+-N 0.05~30.00 mg/L, NO_2^--N 0.011~30.00 mg/L。

3 讨论

本文对文献中单因子试验数据的综合分析表明, 盐度和 pH 对凡纳滨对虾存活时间的影响极显著, NH_4^+-N 和 NO_2^--N 对凡纳滨对虾存活时间的影响不显著, 文献[8]中单因子试验结果显示, 盐度对凡纳滨对虾存活时间的影响显著, pH 的影响极显著, NH_4^+-N 和 NO_2^--N 的影响不显著,

本研究分析结果与文献单因子试验的结果一致[8]。

黄灿华等[11]研究显示, 对虾在低盐环境中的耐受性比在高盐环境中的强。本研究分析结果也表明, 只有盐度 31.0‰ 与 40.0‰ 对凡纳滨对虾存活时间影响差异显著, 其他盐度之间差异均不显著, 而文献[8]的单因子试验结果显示, 20.0‰ 和 31.0‰ 的影响差异不显著, 但盐度 10.0‰ 与 20.0‰ 和 31.0‰ 的影响差异极显著或显著, 这可能与对单因子试验结果进行分析时未将有关数据纳入分析有关。单因子试验中, 每个盐度水平均包括注射 WSSV 的试验组和注射 PBS 的对照组, 但是在分析数据时, 并未考虑对照组的数据[8]。而且, 单因子试验中, 盐度 40.0‰ 的注射 PBS 的对虾出现死亡, 说明盐度对凡纳滨对虾存活时间有影响, 但分析结果时没有纳入这组数据, 这组数据被当作异常数据剔除[8], 表明单因子试验具有一定的局限性, 分析结果时没有综合考虑其他因素的影响。

与文献[13]中多因子正交试验的结果一致, 本研究数据综合分析也表明, pH 和 WSSV 注射量对凡纳滨对虾存活时间的影响极显著。刘昌彬等[12]研究 NH_4^+-N 、pH、盐度和温度 4 种环境因子对人工感染暴发性流行病病原的中国对虾发病的影响, 其正交试验结果也显示 pH 对带毒对虾死亡率的影响非常大。本研究分析结果还显示, NH_4^+-N 和 NO_2^--N 对凡纳滨对虾存活时间影响均不显著, 而文献[13]中多因子试验则发现, NH_4^+-N 和 NO_2^--N 对凡纳滨对虾存活时间影响均极显著。这可能是由于文献[8]的单因子试验与文献[13]的多因子试验采用的 NO_2^--N 质量浓度不一样造成的。单因子试验[8]中 NO_2^--N 的质量浓度比较低, 为 0.011、10、20、30 mg/L, 而多因子试验[13]的 NO_2^--N 质量浓度很高, 为 0.011、20、50 和 100 mg/L, 因而导致多因子试验中 NO_2^--N 对凡纳滨对虾的影响增大, 达到显著水平, 也说明较高质量浓度的 NO_2^--N 才对凡纳滨对虾的存活影响较大。

多因子正交试验[13]还发现, WSSV 注射量对凡纳滨对虾存活时间的影响小于 pH 的影响, 但是本研究对文献[8]中单因子试验数据综合分析发现, WSSV 注射量对凡纳滨对虾存活时间的影响大于 pH 的。这可能是因为多因子试验采用正交设计, 而正交设计会将因素间的交互作用归为

试验误差^[14],从而导致 WSSV 注射量的主效应降低。研究表明, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 对水产动物的毒性主要与水体 pH 有关^[15],何建国等^[7]发现 pH 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的协同作用可显著提高斑节对虾杆状病毒的感染度。本研究也发现盐度、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 pH 之间均存在交互作用,而且盐度和 pH 2 个因子与 WSSV 注射量间均存在极显著的交互作用。本研究还发现, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 2 个因素均与 WSSV 注射量存在交互作用,但其交互效应分别与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 对凡纳滨对虾存活时间影响的单独效应相当。但在文献[13]的多因子正交试验中,并未考虑这些交互作用,从而减弱 WSSV 注射量的效应,导致 WSSV 注射量对凡纳滨对虾存活时间的影响小于 pH 的。另外,多因子正交试验中 pH 最高水平为 9.5^[13],高于单因子试验的 9.0^[8],这可能也使正交试验 pH 的效应比单因子试验的更大。不同文献采用的因子水平不同,可能导致分析结果稍有不同,这意味着各因子的效应并不与水平高低完全呈线性关系,因此,尽可能将更多因子水平、更多文献纳入分析,才能得到更加全面、准确的结果。

综上所述,本文研究结果与文献中单因子和多因子试验结果均一致,而且克服单因子试验不能综合利用其他数据,以及多因子正交试验忽略交互作用的缺点,表明本研究的数据综合分析方法是可行的,而且能够对文献数据进行重新挖掘和利用,有利于减少重复研究,为凡纳滨对虾疾病综合防控及多因子研究提供新的思路。

4 结 论

本研究对文献[8]中的单因子独立试验数据,如盐度、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、pH、以及 WSSV 注射量等 5 个因子对凡纳滨对虾存活时间的影响,进行收集、重新整理和综合分析,结果显示,5 个因子的效应顺序为 WSSV 注射量 > pH > 盐度 > $\text{NH}_4^+\text{-N}$ > $\text{NO}_2^-\text{-N}$,其中盐度、pH 和 WSSV 注射量的效应达到显著。但只有 pH 和 WSSV 注射量这 2 个因子与凡纳滨对虾存活时间具有显著的线性关系,回归方程为 $Y(\text{存活时间}) = 827.6 - 57.5X_1(\text{pH}) - 0.045X_2(\text{WSSV 注射量})$ ($R = 0.820$)。

参考文献 Reference:

- [1] LI F H, XIANG J H. Recent advances in researches on the innate immunity of shrimp in China[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2013, 39(1/2): 11-26.
- [2] 农业部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴 2015[M]. 北京: 中国农业出版社, 2016: 28-30.
Fisheries Administration Bureau of the Ministry of Agriculture of China. China Fishery Statistical Yearbook 2015 [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2016: 28-30 (in Chinese).
- [3] FLEGEL T W. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Asia[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2012, 110(2): 166-173.
- [4] SOTO-RODRIGUEZ S A, GOMEZ-GIL B, LOZANO R, et al. Virulence of *Vibrio harveyi* responsible for the "Bright-red" Syndrome in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2012, 109(3): 307-317.
- [5] 谢珍玉, 周永灿, 冯永勤. 对虾弧菌病的研究进展[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2007, 25(1): 88-95.
XIE ZH Y, ZHOU Y C, FENG Y Q. The research advance in shrimp vibriosis[J]. *Natural Science Journal of Hainan University (Natural Science Edition)*, 2007, 25(1): 88-95 (in Chinese with English abstract).
- [6] 李 生, 钱 冬, 冯东岳, 等. 南美白对虾养殖概况及病害防控措施[J]. 科学养鱼, 2014(7): 13-15.
LI SH, QIAN D, FENG D Y, et al. Aquaculture and disease control of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Scientific Fish Farming*, 2014(7): 13-15 (in Chinese).
- [7] 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其控制措施[J]. 中国水产, 1999, 7: 34-41.
HE J G, MO F. Epidemic outbreak, spread and control of WSSV, relationship of WSSV with physical and chemical factors of water [J]. *China Fisheries*, 1999, 7: 34-41 (in Chinese).
- [8] 陈勇贵. 水体理化因子对急性感染 WSSV 斑节对虾和凡纳滨对虾的影响及预防 WSS 中草药的筛选[D]. 广州: 中山大学, 2004.
CHEN Y G. Effects of water physical and chemical factors on WSSV-infected *Penaeus monodon* and *Litopenaeus vannamei* and scanning of WSS prevention Chinese herb medicine [D]. Guangzhou: Sun Yat-Sen University, 2004 (in Chinese with English abstract).
- [9] 姚 泊, 何建国. 温度对白斑综合症杆状病毒致病力的影响[J]. 广州大学学报(自然科学版), 2002, 1(4): 17-19.
YAO P, HE J G. Temperature effects on pathogenicity of white spot syndrome baculovirus [J]. *Journal of Guangzhou University (Natural Science Edition)*, 2002, 1(4): 17-19 (in Chinese with English abstract).
- [10] 李才文, 管越强, 俞志明. 盐度变化对日本对虾暴发病综合症病毒病的影响[J]. 海洋环境科学, 2002, 21(4): 6-9.
LI C W, GUAN Y Q, YU ZH M. Effects of salinity variation on outbreak of white spot syndrome and immunocompetence in *Penaeus japonicus* [J]. *Marine Environm Ental Science*, 2002, 21(4): 6-9 (in Chinese with English abstract).
- [11] 黄灿华, 石正丽, 张建红, 等. 养虾水体环境因子变化与对虾病毒病之间的关系[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2000, 39(增刊): 159-163.
HUANG C H, SHI ZH L, ZHANG J H, et al. Relationship of environmental factors in penaeid shrimp pond with the shrimp explosive epidemic diseases [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni (Natural Science Edition)*, 2000, 39(Suppl): 159-163 (in Chinese with English abstract).

English abstract).

[12] 刘昌彬,王金星,刘存仁,等. 非生物环境因子对用暴发性流行病病原实验感染的中国对虾发病的影响[J]. 水产学报, 2001, 25(1): 58-63.

LIU CH B, WANG J X, LIU C R, *et al.* Effects of non-bio-logic environmental factors on *Penaeus chinensis* infected by the explosive epidemic disease virus [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2001, 25 (1): 58-63 (in Chinese with English abstract).

[13] 陈勇贵,梁秋玲,何建国. 几种理化因子对急性感染 WSSV 凡纳滨对虾的影响[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2010, 49(6): 78-82.

CHEN Y G, LIANG Q L, HE J G. Effects of water physi-cal and chemical factors on WSSV-infected *Litopenaeus vannamei*[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni (Natural Science Edition)*, 2010, 49(6): 78-82 (in Chinese with English abstract).

[14] 明道绪. 生物统计附试验设计(第 4 版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2014: 255.

MING D X. *Biostatistics and Design of Experiment* [M]. 4th Edition, Beijing: China Agriculture Press, 2014: 255 (in Chinese).

[15] 雷衍之. 养殖水环境化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2015: 118.

LEI Y ZH. *Water Chemistry of Aquaculture* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2015: 118 (in Chinese).

Effect of Water Physiochemical Factors on Survival Time of *Litopenaeus vannamei* Infected by WSSV

HUANG Haihong¹, ZENG Lijuan¹, LI Chaoyun², LIU Xiaolin³, ZHANG Yunsheng¹, LEI Yanju¹, YANG Pinhong¹ and LUO Yushuang¹

(1. Collaborative Innovation Center for Efficient and Health Production of Fisheries/ Key Laboratory of Health Aquaculture and Product Processing in Dongting Lake Area/Zoology Key Laboratory of Hunan Higher Education, College of Life Science, Hunan University of Arts and Science, Changde Hunan 415000, China; 2. Mengjin Animal Husbandry Bureau, Mengjin Henan 471100, China; 3. College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100, China)

Abstract Data about the effect of 5 factors, such as salinity, $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$, pH and WSSV copies, on survival time of *L. vannamei* had been collected from different published articles, and retreated normally for multivariate analysis of variance and multiplelinear regression analysis. Results showed that salinity, pH and WSSV copies injected affected the survival time of *L. vannamei* significantly, but effects of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_2^-\text{-N}$ were not significant, coinciding with results of the published articles. Results of liner regression analysis showed that only effects of pH and WSSV copies on the survival time of *L. vannamei* were significant, and the regression equation was $Y(\text{survival time}) = 827.6 - 57.5X_1(\text{pH}) - 0.045X_2(\text{WSSV copies})$, with $R = 0.820$. The liner effects of the other three factors on the survival time of *L. vannamei* were all not significant. In conclusion, the associated analysis for data from one factor experiments gets results identical with the results of multiple factors experiment, indicating that reusing and associated analysis of data from published articles is feasible, and would be a novel method for research on disease control of *L. vannamei*.

Key words *Litopenaeus vannamei*; White spot syndrome virus (WSSV); Physiochemical factors; Multivariate analysis of variance; Multiple linear regression analysis

Received 2016-04-29 **Returned** 2016-06-21

Foundation item The Sponsoring and Promoting Project for Scientific Research in Hunan University of Arts and Science (No. 15BSQD06); the Northwest A&F University Experimental Demonstration Station (Base) and Innovation of Science and Technology Achievement Transformation Project (No. XNY2013-4); Innovation Project of College Student in Hunan University of Arts and Science (No. ZC1525); the Construct Program of the Key Discipline in Hunan Province.

First author HUANG Haihong, male, Ph. D, lecturer. Research area: water quality and disease control in aquaculture. E-mail: shinkanh@nwsuaf.edu.cn

(责任编辑: 顾玉兰 **Responsible editor:** GU Yulan)