

WSSV 人工感染量和饵料对中国明对虾存活时间的影响

李旭鹏^{1,2}, 孟宪红², 孔 杰^{1,2*}, 曹宝祥², 刘 宁², 罗 坤², 李伟亚²

(1. 中国海洋大学海洋生命学院, 山东 青岛 266003;

2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 为揭示不同白斑综合征病毒(white spot syndrome virus, WSSV)病毒量对于中国明对虾存活时间和存活率的影响, 实验设计了逐尾、定量人工感染实验, 在确保每尾中国明对虾进食特定量 WSSV 毒饵后进行观察、分析。结果显示, 分别喂食含 5.2×10^8 copies、 1.0×10^9 copies、 2.1×10^9 copies WSSV 的毒饵, 对虾平均存活时间分别是 389.3、323.3 和 187.3 h, 差异极显著 ($P < 0.01$); 对虾最终累计死亡率都为 100%。研究表明, 致死量范围内, WSSV 的感染量越低, 对虾的平均存活时间越长。为了揭示饵料对中国明对虾抗病性能的影响, 对已感染 WSSV 的中国明对虾投喂不同饵料。结果显示, 分别喂食活卤虫、鲜蛤肉和配合饲料, 对虾平均存活时间分别是 281.7、173.9 和 164.9 h; 喂食活卤虫的实验组平均存活时间显著高于喂食配合饲料和鲜蛤肉的实验组 ($P < 0.01$); 喂食配合饲料和鲜蛤肉的对虾平均存活时间无显著差异 ($P > 0.05$); 3 组累计死亡率都为 100%, 结果表明, 与配合饲料和鲜蛤肉相比, 喂食活卤虫更能增强对虾抗 WSSV 的能力。

关键词: 中国明对虾; 白斑综合征病毒; 攻毒实验; 饵料; 存活率

中图分类号: S 945.4

文献标志码: A

白斑综合征病毒(white spot syndrome virus, WSSV)是一种对虾高致死性病毒, 自 20 世纪 90 年代初期大规模爆发以来, 全世界超过 30 个国家的对虾养殖业受其影响, 造成巨大经济损失, 严重制约了全球对虾产业的发展^[1-2]。中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)是世界产量最高的 3 种对虾[凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)、斑节对虾(*Penaeus monodon*)、中国明对虾]之一, 主要分布于中国黄、渤海海域^[3]。自 1993 年大规模爆发 WSSV 流行病以来, 其养殖业受到巨大冲击^[4]。诸多对虾抗 WSSV 的研究中, 关于对虾流行病学、免疫学和遗传育种等已取得较大进展^[5-11]。虽然已取得的研究成果尚不能完全抑制 WSSV 对对虾养殖业的影响, 但相关研究成果为深入认识 WSSV 的致病性以及提高对虾的抗 WSSV 性能提供了重要的理论和实践基础。

由于 WSSV 的高致死性, 在养殖和实验过程中, 一旦感染该病毒, 通常在 3~10 d 内中国明对虾死亡率可达到 100%^[12], 这为中国明对虾的抗病品种选育带来了很大难度。桃拉综合征病毒(Taura syndrome virus, TSV)是另一种致病性很强的病毒, 美国夏威夷海洋研究所(Oceanic Institute, OI)通过控制病毒浓度有效控制被感染对虾的死亡率, 已成功地利用存活个体结合家系选育获得了抗 TSV 的凡纳滨对虾群体^[13]。如果中国明对虾也可以通过控制对虾摄食病毒数量达到控制对虾的死亡率, 进而可以直接从存活个体中选择抗性亲本达到选种、留种的目的, 可大大提高选育效率, 但尚未见有关摄食不同毒饵量对对虾存活时间和存活率的报道。另外, 对虾的代谢、生长、抗病能力与摄食饵料种类密切相关。如张天时等^[14]发现喂食活卤虫的中国明对虾幼虾生

收稿日期:2012-07-17 修回日期:2012-09-28

资助项目:国家自然科学基金项目(31072206;31172402);青岛市关键技术攻关类项目(11-1-1-11-hy);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(20603022011010)

通信作者:孔 杰, E-mail:kongjie@ysfri.ac.cn

长速率快于喂食配合饲料和冰冻鲜鱼肉的幼虾;王平等^[15]发现喂食卤虫和鱼粉的已感染 WSSV 日本囊对虾 (*Marsupenaeus japonicus*) 的存活率明显高于喂食配合饲料和牡蛎肉的对虾。鉴于此,探讨摄食不同种类饵料对于感染 WSSV 对虾存活率的影响,对实际对虾生产和育种工作具有重要的参考价值。本实验以“黄海 2 号”中国明对虾为研究材料,通过喂食含不同量 WSSV 的毒饵和 3 种常用对虾饵料(配合饲料、鲜蛤肉、活卤虫),探讨摄食不同含量 WSSV 病毒后中国明对虾存活时间的差异以及不同饵料种类对感染病毒后的中国明对虾存活时间的影响,以期为中国明对虾抗病性能相关研究提供基础数据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验对虾取自中国水产科学研究院黄海水产研究所中国明对虾新品种“黄海 2 号”,平均体质量为 (0.9 ± 0.3) g。

实验所用饵料分别为配合饲料(日清丸红饲料株式会社);鲜蛤肉(购于水产市场);活卤虫(繁育于实验所在养殖基地)。对虾饲养容器为 150 L 水族箱。实验用水为天然海水,经过沙滤、沉淀和 $5/10^6$ 有效氯杀毒处理后使用。水温为 (25 ± 1) °C,盐度为 28。

1.2 实验方法

梯度人工感染实验 人工感染实验在山东省海阳市黄海水产有限公司进行。实验分为 4 组,即实验组 a、b、c 和对照组,每组随机捞取 80 尾对虾。以确认感染 WSSV 后死亡的中国明对虾肌肉组织作为毒饵投喂实验对虾,并利用实时定量 PCR 技术检测毒饵对虾肌肉组织中 WSSV 含量。实验对虾实施逐尾、定量人工感染测试。具体感染方法为每尾对虾单独置于 1 L 容积聚乙烯烧杯中,将经检测确认的感染 WSSV 死亡对虾肌肉组织在低温状态下快速剁碎后,每尾对虾分别喂食 5 mg 毒饵(a 组)、10 mg 毒饵(b 组)、20 mg 毒饵(c 组);对照组喂食相当于 5% 对虾体质量的鲜蛤肉,半小时后观察对虾是否摄食毒饵和鲜蛤肉。摄食完毕后,每组对虾分别放入 150 L 水族箱中,人工感染结束。以喂食毒饵时间为起始时间,每天定时投喂配合饲料至实验结束。实验期间每天换水、清污一次,随时观察并记录对虾

死亡数目和时间。

不同饵料喂养已感染 WSSV 对虾实验 随机捞取 240 尾中国明对虾,按上述方法每尾对虾单独喂食 10 mg 毒饵,摄食完毕后,将对虾随机均分为 A、B、C 3 组(80 尾/组),分别放入 150 L 水族箱中饲养。各组定时投喂配合饲料(A 组)、鲜蛤肉(B 组)和活卤虫(C 组)。从喂食毒饵开始计时,每天换水、清污一次,随时观察并记录对虾死亡数目和时间。

1.3 统计分析

采用 Excel 2010 和 SPSS 19.0.0 等软件进行数据分析。

2 结果

2.1 不同毒饵量对中国明对虾存活时间的影响

通过定量 PCR 检测,本实验中所用毒饵每 5、10 和 20 mg 肌肉组织中 WSSV 拷贝数分别为 5.2×10^8 copies、 1.0×10^9 copies、 2.1×10^9 copies。喂食 5、10 和 20 mg 毒饵的 3 组对虾平均存活时间分别是 389.3、323.3 和 187.3 h(表 1)。在第 13 天时,喂食 20 mg 毒饵的对虾组累积死亡率达到 100%,喂食 5 mg 毒饵和 10 mg 毒饵的对虾累计死亡率分别达到 12.8% 和 47.9%。喂食 5 和 10 mg 毒饵的对虾分别在 26 和 24 d 达到 100% 死亡率(图 1)。对照组在实验结束时无对虾死亡。多重比较结果表明,3 组对虾平均存活时间差异极显著($P < 0.01$)(表 2)。

表 1 不同毒饵量感染中国明对虾后平均存活时间
Tab.1 Average survival time of *F. chinensis* infected by different weights of toxic bait

组别 group	毒饵/mg toxic bait	数量 number	平均存活时间/h average survival time	标准差 standard deviation
a	5	80	389.3	98.3
b	10	80	323.3	134.1
c	20	80	187.3	48.0
对照 control*		80		

注:a:毒饵含 5.2×10^8 copies 病毒;b:毒饵含 1.0×10^9 copies 病毒;c:毒饵含 2.1×10^9 copies 病毒。* 对照组喂食相当于 5% 体重鲜蛤肉,实验结束无对虾死亡。

Notes:a:toxic bait contains 5.2×10^8 copies WSSV;b:toxic bait contains 1.0×10^9 copies WSSV;c:toxic bait contains 2.1×10^9 copies WSSV.* In control group,the weight of fresh clam meat used to feed shrimps was equal to 5% shrimp body weight;no shrimp dead before the end of the test.

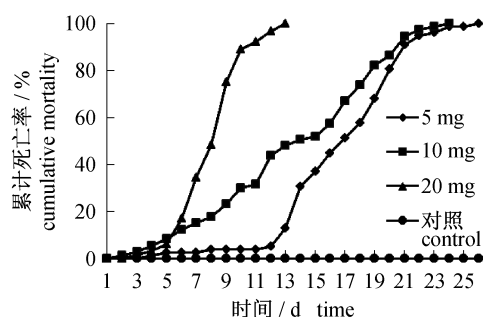


图 1 中国明对虾感染不同毒饵量后累计死亡率

Fig.1 Cumulative mortality of *F. chinensis* infected by different weights of toxic bait

表 2 中国明对虾感染不同毒饵量后平均存活时间多重比较

Tab.2 Multiple comparison of average survival time of *F. chinensis* infected by different weights of toxic bait

毒饵量/mg toxic bait weight	5	10	20
5		0.002 **	0.000 **
10	65.971		0.000 **
20	201.938	135.966	

注:对角线上方为 P 值, ** 表示 0.01 极显著;对角线下方为均值差绝对值。

Notes: The numbers above the diagonal are P values, ** shows 0.01 significant difference; the numbers under the diagonal are absolute values of mean differences.

2.2 不同饵料对感染 WSSV 的中国明对虾存活时间的影响

当对虾摄食 10 mg WSSV 毒饵后,以活卤虫为饵料的对虾平均存活时间最长,为 (281.7 ± 134.7) h;其后依次是鲜蛤肉和配合饲料,分别是 (173.9 ± 134.7) 和 (164.9 ± 83.5) h(图2)。喂食

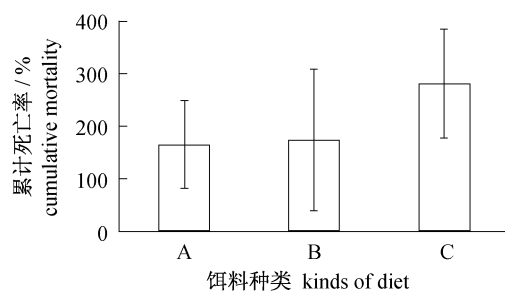


图 2 不同饵料饲养下染毒对虾平均存活时间

A. 日常饵料为配合饲料; B. 日常饵料为鲜蛤肉; C. 日常饵料为活卤虫。

Fig.2 Average survival time of infected *F. chinensis* fed by different diets

A. shrimps were fed by formulated diet; B. shrimps were fed by fresh clam meat; C. shrimps were fed by live brine shrimps.

配合饲料、鲜蛤肉和活卤虫的染毒对虾累计死亡率分别在第 18、20 和 20 天达到 100% (图 3)。多重比较结果表明,以活卤虫为日常饵料的染毒对虾平均存活时间与其他两组差异极显著 ($P < 0.01$); 分别以鲜蛤肉和配合饲料为日常饵料的染毒对虾平均存活时间之间无显著差异 ($P > 0.05$) (表 3)。

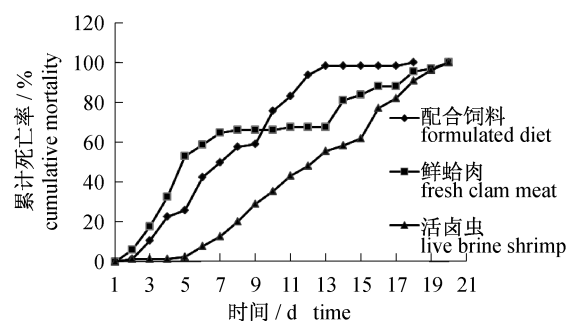


图 3 不同饵料饲养条件下染毒对虾累计死亡率

Fig.3 Cumulative mortality of infected *F. chinensis* fed by different diets

表 3 不同饵料饲养条件下染毒对虾平均存活时间的多重比较

Tab.3 Multiple comparison of average survival time of infected *F. chinensis* fed by different diets

组别 group	A	B	C
A		1.000	0.000 **
B	9.055		0.000 **
C	116.825	107.770	

注:A. 日常饵料为配合饲料; B. 日常饵料为鲜蛤肉; C. 日常饵料为活卤虫。对角线上方为 P 值, ** 表示 0.01 极显著; 对角线下方为均值差绝对值。

Notes: A. shrimps were fed by formulated diet; B. shrimps were fed by fresh clam meat; C. shrimps were fed by live brine shrimps. The numbers above the diagonal are P values, ** shows 0.01 significant difference; the numbers under the diagonal are absolute values of mean differences.

3 讨论

3.1 感染方法

WSSV 爆发对中国乃至全世界的对虾养殖业造成巨大影响,对其研究手段也多种多样^[16]。在对虾抗病品种选育和抗 WSSV 机理的研究过程中,常需进行对虾的人工感染测试。感染方法一般采用喂食、注射和浸浴等,而人工感染实验应模拟自然环境中病毒感染对虾的过程^[17]。浸浴病毒悬液和人工注射病毒粗提液的方法由于与自然

环境中病毒侵染宿主的途径不同,导致对虾自身产生的防御机制及结果会有差异;同时注射方法会对测试个体本身造成创伤,影响结果的真实性。一般投喂感染方法多为粗放式的整池投喂方法,每尾对虾的摄食量、摄食次数、甚至是否摄食均不能加以控制,从而增大感染测试过程中的误差而使效果不理想。本实验中对虾逐尾、定量人工感染法能保证每尾对虾所摄食毒饵量一致,且能灵活改变毒饵量的多少,该方法尚未见其他相关报道。

3.2 病毒感染量与对虾的死亡

一般情况下,病原与发病是一个正相关的关系,病原越多或密度越大,宿主发病的概率越高。中国明对虾的实验也验证了这个基本规律。中国明对虾进食含不同 WSSV 量 (5.2×10^8 copies、 1.0×10^9 copies、 2.1×10^9 copies) 毒饵后,摄食毒饵量越低,初期死亡率越低、存活时间越长(图 1),各组平均存活时间差异极显著 ($P < 0.01$) (表 2)。日本对虾的注射感染也证明上述规律的存在。刘波等^[18]发现注射稀释 10 倍、 1×10^2 倍、 1×10^3 倍 WSSV 病毒粗提液后的日本对虾,16 d 的累计死亡率分别达到 100%、80%、80%;注射稀释 1×10^4 、 1×10^5 倍病毒粗提液后的日本对虾无病毒爆发现象,死亡率低于 30%。凡纳滨对虾的注射感染结果更进一步支持这个规律。当注射 1×10^2 copies/g WSSV 时,90 尾凡纳滨对虾只有 1 尾死亡,但当注射 1×10^3 copies/g、 1×10^4 copies/g、 1×10^5 copies/g 病毒时,对虾累计死亡率在 268 h 前都接近 100%,且无显著差异^[19]。上述研究结果均证实,病毒量与发病关系密切,微量病毒仅诱发个别个体发病,少量的病毒可导致部分对虾死亡,当病毒量达到一定量后,100% 个体染病死亡。虽然在本项研究中中国明对虾逐尾、定量人工感染法没有尝试微量病毒感染,但却发现又一个重要规律,即在致死量范围内,病毒的感染量低,对虾染病后的死亡速度慢,感染量高,对虾死亡速度快。研究结果对研究对虾对 WSSV 抗性具有重要意义。

3.3 对虾发病影响因子探讨

对虾的生长环境包含若干因素,例如水温、饵料质量等。水温已经被证实与对虾的发病有密切关系^[20]。饵料是最易控制的因素之一,本实验选用了 3 种常见的中国明对虾饵料(配合饲料、鲜蛤

肉、活卤虫)作为研究对象。结果表明,在中国明对虾感染 WSSV 后,喂食活卤虫的对虾平均存活时间显著高于喂食配合饲料、鲜蛤肉 ($P < 0.01$) (表 3),说明喂食活卤虫可在一定程度上增强对虾对抗 WSSV 的能力。对斑节对虾和日本囊对虾也有类似研究。斑节对虾在感染 WSSV 后喂食活卤虫,其存活率高于分别喂食人工配合饲料、虾片、贝肉和鱼肉^[21];日本囊对虾在感染 WSSV 后喂食活卤虫和鱼粉,其存活率显著高于喂食配合饲料和牡蛎肉^[15]。综合考虑在实际生产中的成本问题,使用活卤虫配合其他饵料也能取得较好效果^[22-23]。若干饵料添加剂已被证明可增强对虾自身免疫力或加快生长,例如饵料中添加海藻多糖和北虫草多糖可以显著提高中国明对虾血细胞吞噬能力等免疫功能^[24]。本实验中,在中国明对虾感染 WSSV 后,喂食鲜蛤肉与喂食配合饲料的对虾平均存活时间无显著差异,综合考虑成本和投饵的方便程度,配合饲料优于鲜蛤肉。

3.4 病害防治

WSSV 致死性强,病害防治常通过改善饲养条件、培育无特定病原 (specific pathogen free, SPF) 群体、选育抗病群体等手段实现。

改善饲养条件,如选用优质饵料是一种简单易行的病害防治方法,但受到成本等因素的制约。本实验结果证明活卤虫是一种较好的对虾饵料,相对于配合饲料和鲜蛤肉,能延长感染 WSSV 对虾存活时间。但活卤虫价格高,繁育需花费时间、人力、物力,因此在实际生产中很难作为主要饵料。

SPF 是一种病害防控概念,通过防止特定病原的引进,有效防止病害发生^[25]。养殖 SPF 对虾,虽然降低对虾自身携带病原的可能性,但在较差饲养条件下饲养 SPF 对虾依然可能引入外来病原,致使对虾染病死亡。

选育抗病群体可从根本上杜绝病害发生。相对于前两种病害防治手段,选育抗病群体花费时间较长,投入成本较高。好的选育方法能缩短选育周期,节约成本。好的育种方法的建立需要大量科研数据和信息的支持。美国夏威夷海洋研究所(OI)通过控制病毒浓度有效控制被感染对虾的死亡率,保留存活个体作为亲本,加快了育种进程,已成功选育出抗 TSV 的凡纳滨对虾群体^[13]。本实验用逐尾、定量的感染方法发现在致死量范

围内,病毒的感染量低,对虾染病后的死亡速度慢,可望找到能有效控制死亡率的感染方法,保留存活个体作为亲本,加快抗 WSSV 对虾育种工作。同时,生产中饲养抗病群体也能减轻生产压力,节约成本,与 SPF 级育种环境结合可进一步防止病害发生。

参考文献:

- [1] Flegel T W. Current status of viral diseases in Asian shrimp aquaculture [J]. Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 2009, 61(3): 229 - 239.
- [2] Tapay L M, Nadala Jr E C B, Loh P C. A polymerase chain reaction protocol for the detection of various geographical isolates of white spot virus [J]. Journal of Virological Methods, 1999, 82(1): 39 - 43.
- [3] 孟宪红. 中国对虾“黄海 2 号”对 WSSV 的抗病性分析[D]. 青岛:中国海洋大学, 2010.
- [4] 孟宪红,孔杰,刘萍,等. 中国明对虾抗白斑综合征病毒分子标记的筛选[J]. 中国水产科学, 2005, 12(1): 14 - 19.
- [5] 宋晓玲,黄健,王崇明,等. 皮下及造血组织坏死杆状病毒对中国对虾亲虾的人工感染[J]. 水产学报, 1996, 20(4): 374 - 378.
- [6] 汪岷,包振民,邵济钧,等. 中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 的白斑综合征病毒 (WSSV) 的提纯和核酸提取 [J]. 中国海洋大学学报, 1999, 29(3): 479 - 482.
- [7] 江世贵,何建国,吕玲,等. 白斑综合征病毒对斑节对虾亲虾的感染及垂直传播的初步研究[J]. 中山大学学报:自然科学版, 2000, 39(增刊): 164 - 171.
- [8] 刘萍,孔杰,李健,等. 白斑综合征病毒 (WSSV) 对中国对虾卵及各期幼虾人工感染的试验研究[J]. 海洋水产研究, 2001, 22(1): 1 - 6.
- [9] Meng X H, Wang Q Y, Kong J, et al. Tolerance of *Fenneropenaeus chinensis* “Huanghai No. 2” to white spot syndrome virus [J]. Journal of Shellfish Research, 2011, 30(2): 375 - 380.
- [10] 雷质文,黄健,杨冰,等. 感染白斑综合征病毒 (WSSV) 对虾相关免疫因子的研究[J]. 中国水产科学, 2001, 8(4): 46 - 51.
- [11] 王伟继,张天时,杨翠华,等. 中国对虾抗 WSSV 及其它经济性状的 QTL 定位初步研究[J]. 动物学报, 2008, 54(6): 1075 - 1081.
- [12] Lightner D V. Epizootiology, distribution and the impact on international trade of two penaeid shrimp viruses in the Americas [J]. Revue Scientifique et Technique, 1996, 15(2): 579 - 601.
- [13] Argue B J, Arce S M, Lotz J M, et al. Seletive breeding of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for growth and resistance to Taura syndrome virus [J]. Aquaculture, 2002, 204(3 - 4): 447 - 460.
- [14] 张天时,孔杰,刘萍,等. 饵料和养殖密度对中国对虾幼虾生长及存活率的影响[J]. 海洋水产研究, 2008, 29(3): 41 - 47.
- [15] 王平,孙成波,庄健进,等. 5 种饵料对日本囊对虾早期生长及感染 WSSV 存活率的影响[J]. 热带生物学报, 2010, 1(4): 371 - 375.
- [16] Lightner D V, Redman R M. Shrimp diseases and current diagnostic methods [J]. Aquaculture, 1998, 164(1 - 4): 201 - 220.
- [17] Cock J, Gitterle T, Salazar M, et al. Breeding for disease resistance of Penaeid shrimps [J]. Aquaculture, 2009, 286(1 - 2): 1 - 11.
- [18] 刘波,俞志明. 建立白斑综合征病毒在日本对虾体内潜伏性感染的方法研究[J]. 海洋科学, 2003, 27(8): 72 - 76.
- [19] Huang Y C, Yin Z X, Ai H S, et al. Characterization of WSSV resistance in selected families of *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquaculture, 2011, 311(1 - 4): 54 - 60.
- [20] Rahman M M, Corteel M, Dantas-Lima J J, et al. Impact of daily fluctuations of optimum (27 °C) and high water temperature (33 °C) on *Penaeus vannamei* juveniles infected with white spot syndrome virus (WSSV) [J]. Aquaculture, 2007, 269(1 - 4): 107 - 113.
- [21] 胡贤德,孙成波,丁树军,等. 不同饵料对斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 幼虾的生长及对 WSSV 敏感性的影响 [J]. 海洋与湖泊, 2009, 40(3): 296 - 301.
- [22] 王克行. 虾蟹类增养殖学[M]. 北京:农业出版社, 1997.
- [23] 林琼武,单保党,黄加祺. 不同饵料搭配对日本对虾人工育苗存活率的影响[J]. 台湾海峡, 2001, 20(增刊): 44 - 48.
- [24] 江晓路,刘树青,张朝晖,等. 多糖对中国对虾免疫功能的影响[J]. 中国水产科学, 1999, 6(1): 66 - 68.
- [25] 宋晓玲,黄健. 无特定病原 (SPF) 对虾种群的选育及应用[J]. 渔业现代化, 2006, 33(6): 17 - 20.

Effects on survival time of *Fenneropenaeus chinensis* challenged by different doses of WSSV and diets

LI Xupeng^{1,2}, MENG Xianhong², KONG Jie^{1,2*}, CAO Baoxiang², LIU Ning², LUO Kun², LI Weiya²

(1. College of Marine Life Science, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: White spot syndrome virus (WSSV) is one kind of destructive virus affecting shrimp industry in the world. Output of *Fenneropenaeus chinensis* which once was a staple species has been greatly affected by outbreak of WSSV since 1993 in China. To produce WSSV-resistance shrimp strains is an important approach to revive the shrimp industry. To select survived *F. chinensis* as broodstock via WSSV challenge test can increase the efficiency of breeding. However, mortality of shrimps could reach nearly 100% once they were infected with WSSV, which increases the difficulty for shrimp breeding. In this study for the purpose to reveal effect of different WSSV amount on *F. chinensis*, juvenile *F. chinensis* were infected with a certain amount of WSSV individually and the survival time and survival rate were observed. The results showed that survival time of shrimps infected with 5.2×10^8 copies, 1.0×10^9 copies and 2.1×10^9 copies of WSSV respectively was 389.3, 323.3 and 187.3 h and significant different ($P < 0.01$). The cumulative mortalities of all the shrimps finally reached 100%. The survival time increased while shrimps were fed with less WSSV bait. For the purpose to reveal the effect of diets on the ability for disease resistance, shrimps infected with WSSV were fed with different diets of live brine shrimps, commercial bait and fresh clam. It was showed that the survival time of infected shrimps fed with live brine shrimps, fresh clam and commercial bait respectively was 281.7, 173.9 and 164.9 h. The survival time of infected shrimp fed with live brine shrimps was significantly higher than that fed by commercial bait and fresh clam respectively ($P < 0.01$). There was no significant difference of survival time between infected shrimps fed with commercial bait and fresh clam ($P > 0.05$). Cumulative mortalities of all the groups of infected shrimps that fed with different diets were 100%. Live brine shrimp is better than commercial bait and fresh clam for the purpose of enhancing shrimp WSSV resistance ability.

Key words: *Fenneropenaeus chinensis*; white spot syndrome virus (WSSV); challenge test; diet; survival rate

Corresponding author: KONG Jie. E-mail: kongjie@ysfri.ac.cn