

鱼类淋巴囊肿病毒的分子生物学研究进展

闫秀英¹, 孙修勤^{2*} (1. 广东海洋大学, 广东省水产经济动物病原生物学及流行病学重点实验室, 广东湛江 524025; 2. 海洋生态研究中心, 国家海洋局第一海洋研究所, 山东青岛 266061)

摘要 鱼类淋巴囊肿病毒(*Lymphocystis disease virus*, LCDV)遍布全球,且宿主范围广,给水产养殖业造成了严重的损失。国内外学者对LCDV进行了系统的研究。随着对LCDV分子生物学研究的深入,将会建立更加有效防控淋巴囊肿病的途径。对鱼类淋巴囊肿病毒的分子生物学特征、多样性及分子系统学、比较基因组学、功能基因、分子生物学致病机理和病鱼自愈机制及淋巴囊肿病检测、诊断和预防等的分子生物学方法等进行了综述。

关键词 淋巴囊肿病毒(*Lymphocystis disease virus*); 分子生物学; 研究进展

中图分类号 S941 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)10-04395-03

Research Progress of Molecular Biology of *Lymphocystis Disease Virus* from Fish

YAN Xiu-ying et al (Guangdong Key Laboratory of Pathogenic Biology and Epidemiology for Aquatic Economic Animals, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524025)

Abstract *Lymphocystis disease virus* (LCDV) isolated from fish spreaded all over the world with the wide host range. *Lymphocystis disease virus* had caused serious losses in aquaculture. The systematic research on the LCDV has been done by the domestic and foreign scholars. In this paper, molecular characteristics, diversity and molecular phylogeny, comparative genomics, functional genes, molecular pathogenesis, detection of LCDV and self-healing mechanism of fish, molecular diagnosis and prevention methods were reviewed.

Key words *Lymphocystis disease virus*; Molecular biology; Research progress

鱼类淋巴囊肿病毒(*Lymphocystis disease virus*, LCDV)属于虹彩病毒科(Iridoviridae)、淋巴囊肿病毒属(*Lymphocystivirus*),病毒粒子呈六角形、二十面体对称,有包膜,在细胞浆内装配^[1-2]。LCDV遍布全球,能引起9目、34科共140种以上海水鱼、淡水鱼的淋巴囊肿病^[3-4],感染率可达70%,可在淡水鱼、海水鱼组织细胞中扩增并引起宿主细胞病变,严重影响其市场价值及观赏价值等,部分感染鱼体还可造成死亡。虽然此病有自愈现象,但是自愈后的鱼经运输后死亡率可达80%,给水产养殖业造成了严重的损失^[5]。笔者对鱼类淋巴囊肿病毒分子生物学研究进行了综述,包括LCDV的发现及其分子生物学特征、LCDV的多样性及基因组结构、LCDV分子系统学研究、LCDV感染的分子生物学研究、LCDV的分子生物学致病机理、淋巴囊肿病分子生物学诊断及防治方法等。

1 淋巴囊肿病毒的发现及其分子生物学特征

Lowe^[6]于1874年在鲷形目鱼类中首次发现淋巴囊肿病后,Walker^[7]于1962年在电镜下首次观察到LCDV,描述了其形态和结构,并命名为*Lymphocystis disease virus*。LCDV为双链DNA病毒,呈二十面体对称,因为宿主和环境等不同,病毒粒子大小有所差异,直径范围介于130~350 nm^[8]。在LCDV基因序列中22%的C残基被甲基化,另外还包括75% CpG、1% CpC和2%~5% CpA二核苷序列的甲基化。然而,CCGG序列中的C碱基几乎完全被甲基化,而GCGC序列中的C碱基被甲基化的程度低得多^[9]。淋巴囊肿病毒的基因组物理图谱^[10]和重复DNA序列单元分析表明,LCDV

重复序列可能在病毒复制中起着调控的作用^[11]。对LCDV胸苷激酶(TK)基因和*mcp*等基因的研究表明,LCDV与其他虹彩病毒相比,虽然在结构组成上有显著差异,但也有共同的区域^[12-14]。

LCDV-1是最早发现的淋巴囊肿病毒,也是淋巴囊肿病毒属的代表种。随着对LCDV的深入研究,于1997年获得了LCDV-1的全基因组序列^[15]。此后,获得了我国LCDV分离株LCDV-cn的*mcp*基因部分序列^[5],与LCDV-1的*mcp*基因序列同源率为77%,并将其命名为淋巴囊肿病毒中国分离株(*Lymphocystis disease virus Chinese isolate*, LCDV-cn)。于2004年获得了淋巴囊肿病毒中国牙鲆分离株LCDV-C的全基因组序列^[16]。LCDV-C与LCDV-1基因组序列间存在着较大的差异。

2 淋巴囊肿病毒多样性与分子系统学研究

研究表明,鱼类淋巴囊肿病毒存在多样性。利用限制性内切酶和DNA杂交技术对LCDV基因组进行分析表明,LCDV存在2个株系:1株系为LCDV-1,其宿主主要为川鲷(*Platichthys flesus*)和白齿海鲷(*Pleuronectes platessa*);另1个株系为LCDV-2,其宿主主要为北欧锥齿鲷(*Limanda limanda*)^[17];根据8株分离自金头鲷(*Sparus aurata*)、黑斑鲷(*Pagellus bogaraveo*)和地中海鲷(*Solea senegalensis*)的LCDV蛋白质数目和质量,这8株LCDV被分为3个株系,第1个株系为LCDV-2、LCDV-3和LCDV-5,第2个株系为LCDV-1、LCDV-4、LCDV-6、LCDV-7和LCDV-11,第3个株系为参照株ATCC VR 342^[18];对LCDV ORF167蛋白序列的进化分析认为LCDV分为2支,1支为LCDV-1,另1支为LCDV-2(分离自比目鱼*Limanda limanda*)^[19]。

目前已分离到多株淋巴囊肿病毒,不同淋巴囊肿病毒株之间差异较大。对已知LCDV分离株的基因型和系统发生关系的研究表明,鱼类淋巴囊肿病毒至少存在7种基因型:

基金项目 国家高技术研究发展计划项目(2006AA100309)。

作者简介 闫秀英(1978-),女,山东聊城人,讲师,博士,从事海洋生物学研究。*通讯作者,研究员,博士,博士生导师,从事海洋生物学研究,E-mail:xiuqin_sun@fio.org.cn。

收稿日期 2013-03-09

基因型I(包括 LCDV-1)、基因型II(包括牙鲆分离株 LCDV-jf、LCDV-cn 和 LCDV-C 等)、基因型III(包括岩鱼分离株 LCDV-rf)、基因型IV(包括军曹鱼分离株 LCDV-rc 和鲈鱼分离株 LCDV-sb)、基因型V(包括玻璃拉拉鱼分离株 LCDV-cb)、基因型VI(珍珠鱼分离株 LCDV-tl)、基因型VII(金头鲷分离株 LCDV-sa)^[20-22]。

LCDV *mcp* 基因变异的主要原因是基因突变,据此推测淋巴囊肿病毒 *mcp* 基因的进化并未改变 MCP 蛋白的基本结构和基本功能^[23]。对 LCDV 系统关系的研究发现,LCDV 分化的先后顺序依次为:LCDV-1 最先分化出来,然后是 LCDV-rf、LCDV-tl、LCDV-cb、LCDV-sa、LCDV-rc 和 LCDV-sb,最后分化出来的是 LCDV-cn、LCDV-C 和 LCDV-jf。另外,LCDV 与其宿主的共进关系并不明显^[22]。

3 淋巴囊肿病毒的比较基因组学研究

对 LCDV-cn 基因组结构和特征进行分析研究,认为 LCDV-cn 与 LCDV-C 为同一淋巴囊肿病毒分离株^[24]。LCDV-1 和 LCDV-C (LCDV-cn) 比较基因组学研究表明,LCDV-1 基因组长 102 653 bp、编码 195 个 ORF,而 LCDV-C 基因组长 186 250 bp、编码 240 个 ORF;虹彩病毒科最保守的基因是 *mcp* 基因,但是 LCDV-1 和 LCDV-C *mcp* 基因核苷酸序列相似度仅为 78.9%^[20]。

生物信息学比较分析表明在 LCDV-C 240 个 ORF 中,有 103 个 ORF 是与 LCDV-1 同源的,其中有 46 个 ORF 是 LCDV-1 和 LCDV-C 特有的,与其他虹彩病毒没有同源性,在这些特有的 46 个 ORF 中,ORF33R 编码假定的膜结合金属蛋白酶,含有 COG4942 保守结构域;ORF67R 含有 F_box 保守结构域、ORF101L 含有 CUB 保守结构域;ORF237L 编码染色体分离 ATP 酶,含 Smc 保守结构域。

在 LCDV-C 和 LCDV-1 非同源的基因中,有 16 个 ORF 含有保守结构域:ORF2L 含有与凋亡信号有关的胱冬肽酶募集结构域(CARD);ORF11L 含有胸腺合成酶结构域(Ts_Pyrimidine_HMase);ORF16L 含有 2 个肿瘤坏死因子受体结构域(TNFR);ORF41L 含有核苷酸还原酶结构域(RNRR2, Ferritin_like);ORF47R 含有定点结合酶结构域(INT_Tn554A_C);ORF51L 含有依赖 RNA 的 DNA 聚合酶结构域(RVT);ORF58L 和 ORF124R 含有 7 转膜受体结构域(7tm_1);ORF61R 含有 ZnF_C2H2 保守结构域;ORF95R 含有肿瘤坏死因子受体结构域(TNFR);ORF172L 含有核苷酸还原酶 α 亚单位结构域(RNR_1);ORF180R 含有结构域(Sulfotransfer_1);ORF189R 含有 BCL 保守结构域,ORF209R 含有细胞分裂蛋白 48 结构域(CDC48_N, 2 个 AAA, RPT1);ORF154R 和 ORF216L 含有胶原三螺旋重复单位保守结构域(Collagen)。其中,ORF11L、ORF16L、ORF47R、ORF51L、ORF58L、ORF95R、ORF124R、ORF180R、ORF189R、ORF209R 和 ORF216L 是 LCDV-C 特有的含有保守结构域的 ORF。

在 LCDV-1 基因组中,有 49 个 ORF 是 LCDV-1 和 LCDV-cn 共有,而其他虹彩病毒无同源性,其中有 5 个 ORF 含有蛋白保守结构域,即 ORF24 含 Peptidase_C1 保守结构域,

ORF10 含有 Reo_sigmaC 保守结构域,ORF28 含 ZnF_C3H1 保守结构域,ORF37 含有 Collagen 保守结构域,ORF40L 含有 CUB 保守结构域。ORF42 是 LCDV-1 特有的 ORF,含有 GLECT 保守结构域。

在 LCDV 基因组中有大量的 ORF 与多种虹彩病毒有同源性,进一步对 LCDV 和虹彩病毒进行生物信息学等研究可为 LCDV 的感染研究奠定基础。淋巴囊肿病毒的全基因组序列大部分缺乏明确的功能注释,对其基因功能的报道甚少。

4 淋巴囊肿病毒的功能基因研究

获得 LCDV 基因组序列后,科研工作者着力于解析其基因的功能。对 LCDV-cn 锌指蛋白基因 *lcn61* 和 *lcn140* 的研究发现,*lcn61* 编码的锌指蛋白含有 4 个 C2H2 型锌指结构域,*lcn140* 编码的锌指蛋白含有 4 个 C3H1 型锌指结构域和 4 个简单重复序列,推测 LCDV-cn 锌指蛋白可能在淋巴囊肿病的发生和病毒的复制中发挥作用^[25-26]。LCDV-C 肿瘤坏死因子受体具有典型的半胱氨酸富集区功能结构域^[27],LCDV-C 羧基固醇脱氢酶 HSD 有亲水区和跨膜跨膜结构域、抗原区、 α 螺旋区和 β 折叠区^[28]。LCDV-C 胸苷酸合成酶具有酶活性分子所有的柔性和可变性结构特征,可以促进细胞进入 S 和 G2/M 期^[29]。LCDV 功能基因还需要更深入的研究,以解析 LCDV 的致病机制和感染机理等。

5 淋巴囊肿病毒分子生物学致病机理和患病牙鲆的自愈机制

LCDV 侵入鱼体后,首先在受感染的表皮细胞的细胞质内形成包涵体,同时表皮细胞形成淋巴囊肿细胞。当病毒粒子在包涵体内装配完毕后进入胞质。利用 PCR 检测人工感染后牙鲆各组织的感染情况,认为消化道也可能是病毒感染鱼体的一条通路^[30]。应用原位杂交技术发现 LCDV 的垂直传播途径也是可能存在的^[31]。LCDV 致病机制的研究还处于起步阶段,特别是分子生物学致病机制还需要深入研究。

通过对不同饲养水温下健康和患淋巴囊肿病牙鲆细胞因子的表达变化进行研究,发现细胞因子在肿瘤自愈中起着一定的作用。患病牙鲆肝、脾、头肾组织中的 IL-8、IL-8R、Mx、IL-1p、TNF 和 TNFR-1 在淋巴囊肿病自愈过程中可能发挥了抗病毒作用^[32]。患病牙鲆自愈机制的研究,为防治淋巴囊肿病提供了新的途径。

6 淋巴囊肿病毒检测和淋巴囊肿病诊断的分子生物学方法

应用分子生物学技术对淋巴囊肿病毒的检测和疾病诊断方法进行了研究^[33],如应用 ELISA 技术在患淋巴囊肿病牙鲆中检测到特异性的 LCDV 抗体,建立了 LCDV 的 ELISA 诊断技术^[34]。免疫点杂交(Immunoblot)已被用于 LCDV 的诊断,免疫杂交是诊断 LCDV 的适宜方法^[35]。

PCR 技术在 LCDV 的检测中应用较广,灵敏度高,迄今为止用于检测 LCDV 的引物大多是根据其 *mcp* 基因的保守区设计的。刘允坤等^[30]对患淋巴囊肿病牙鲆进行 PCR 检测,获得了 172 bp 的特异性 DNA 片段,PCR 灵敏度为 0.018 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。孙修勤等以 PCR 扩增的此特异性片断为探针,进行地高辛标记,建立了原位杂交检测技术,可对囊肿组

织中的 LCDV 进行有效定性和定位^[31,36]。环介导等温扩增和实时定量 PCR 检测方法适用于淋巴囊肿病的早期诊断和现场诊断^[37]。随着分子生物学的发展,淋巴囊肿病毒检测和淋巴囊肿病的诊断方法越来越有可靠性、准确性和时效性。

7 淋巴囊肿病防治的分子生物学方法

抗病毒药物不能根治淋巴囊肿病,而所起预防作用也很有限,亟需研发防治淋巴囊肿病的有效方法。

牙鲆 LCDV 单克隆抗体的成功制备和 *mcp* 基因在原核与真核系统中的成功表达,为进一步研究其保护性抗原和疫苗的研制奠定了基础^[38-40]。核酸疫苗 pEGFP-N2-LCDV-cn-MCP 0.6 可诱导牙鲆特异性体液免疫和细胞免疫,具有明显的免疫保护作用^[40]。注射此 DNA 疫苗后,DNA 疫苗遍布鱼体不同组织,可诱导牙鲆特异性体液免疫和细胞免疫^[41]。对此核酸疫苗的安全性鉴定表明,核酸疫苗不与牙鲆染色体发生整合,也未对环境中的抗性菌数量和种类产生影响,所用的核酸疫苗对于受免牙鲆和环境都是安全的^[42]。开发有效和安全的 LCDV 疫苗是防治淋巴囊肿病的有效途径之一,LCDV 基因组全序列的测定为病毒疫苗尤其是基因疫苗的研制奠定了基础。

8 展望

鱼类病毒病是严重影响水产养殖业的世界性难题。淋巴囊肿病是最早有文字记载的鱼类病毒病之一,给水产养殖业造成了严重的损失,其防控迫在眉睫。若要彻底防控淋巴囊肿病,阐明 LCDV 的特性、感染机理、致病机制等是根本所在。随着分子生物学的发展,病毒分子生物学已形成一个独立的分支。尽管 LCDV 的分子生物学研究取得了较大的进展,但目前还存在许多尚未解决的问题。目前已获得 2 株 LCDV 分离株的基因组序列,但对其 ORF 的功能则少见报道,对 LCDV 的特性、基因组复制与转录的调控机制及功能基因还有待进一步研究;对 LCDV 的感染机理、致病机制在分子水平的研究还处于初步阶段,也是将来研究的重点之一;用于预防淋巴囊肿病的基因工程疫苗取得了一定的成绩,但也还需要进一步开发与研制。今后,应加强 LCDV 与宿主(细胞)相互作用机制的研究,如 LCDV 毒力相关基因的鉴定、抗 LCDV 相关基因的研究、抗 LCDV 安全有效的药物研发等。

此外,LCDV 存在多种基因型,其宿主范围广,但对其进化特性则少见报道,随着更多 LCDV 分离株相关基因的获得,阐明 LCDV 的分子变异和进化规律已成为可能;RNA 干扰和基因芯片等分子生物学领域的前沿技术也将会在 LCDV 的研究中发挥重要作用。对 LCDV 分子生物学的深入研究,将会在分子水平上揭示 LCDV 的致病机制,将有助于建立有效防控淋巴囊肿病的方法和途径。随着病毒分子生物学研究的深入,更加有效防治淋巴囊肿病的产品可能会在不久的将来问世。

参考文献

[1] CHINCHAR V G, ESSBAUER S, HE J G, et al. Iridoviridae "virus taxono-

- my: VIII report of the international committee on the taxonomy of viruses" [R]. London: Elsevier, 2005: 163-175.
- [2] SAMALECOS C P. Analysis of the structure of fish lymphocystis disease viruses from skin tumours of pleuronectes [J]. Arch Virol, 1986, 91(1/2): 1-10.
- [3] TIDONA C A, DARAI G. Lymphocystis disease virus (Iridoviridae) [M]// GRANOFF A, WEVSTER R G. Encyclopedia Virology. USA: Academic Press, 1999: 908-911.
- [4] BUNKLEY-WILLIAMS L, WILLIAMS E H JR, PHELPS R P. Does lymphocystis occur in pacora, *Plagioscion surinamensis* (Sciaenidae), from Colombia [J]. Acta Trop, 2002, 82(1): 7-9.
- [5] 徐洪涛, 朴春爱, 姜忠良, 等. 养殖牙鲆淋巴囊肿病原的研究 [J]. 病毒学报, 2000, 16(3): 223-226.
- [6] LOWE J. Fauna and flora of Norfolk. Part IV. Fishes [M]. Norfolk, U. K.: Trans Norfolk Norwich Nat Soc, 1874: 21-56.
- [7] WALKER R. Fine structure of lymphocystis virus of fish [J]. Virology, 1962, 18: 503-505.
- [8] BERTHIAUME L, ALAIN R, ROBIN J. Morphology and ultrastructure of Lymphocystis disease virus, a fish iridovirus, grown in tissue culture [J]. Virology, 1984, 135(1): 10-19.
- [9] WAGNER H, SIMON D, WERNER E, et al. Methylation pattern of fish lymphocystis disease virus DNA [J]. J Virol, 1985, 53(3): 1005-1007.
- [10] DARAI G, DELIUS H, CLARKE J, et al. Molecular cloning and physical mapping of the genome of fish lymphocystis disease virus [J]. Virology, 1985, 146(2): 292-301.
- [11] SCHNITZLER P, DELIUS H, SCHOLZ J, et al. Identification and nucleotide sequence analysis of the repetitive DNA element in the genome of fish lymphocystis disease virus [J]. Virology, 1987, 161(2): 570-578.
- [12] SCHNITZLER P, HANDERMANN M, SZÉPE O, et al. The primary structure of the thymidine kinase gene of fish lymphocystis disease virus [J]. Virology, 1991, 182(2): 835-840.
- [13] SCHNITZLER P, DARAI G. Identification of the gene encoding the major capsid protein of fish lymphocystis disease virus [J]. J Gen Virol, 1993, 74(10): 2143-2150.
- [14] MÜLLER M, SCHNITZLER P, KOONIN E V, et al. Identification and properties of the largest subunit of the DNA-dependent RNA polymerase of fish lymphocystis disease virus; dramatic difference in the domain organization in the family Iridoviridae [J]. J Gen Virol, 1995, 76(Pt 5): 1099-1107.
- [15] TIDONA C A, DARAI G. The complete DNA sequence of lymphocystis disease virus [J]. Virology, 1997, 230(2): 207-216.
- [16] ZHANG Q Y, XIAO F, XIE J, et al. Complete genome sequence of lymphocystis disease virus [J]. Journal of Virology, 2004, 78(13): 6982-6994.
- [17] DARAI G, ANDERS K, KOCH H G, et al. Analysis of the genome of fish lymphocystis disease virus isolated directly from epidermal tumours of pleuronectes [J]. Virology, 1983, 126(2): 466-479.
- [18] GARCIA-ROSADO E, CASTRO D, CANO I, et al. Protein and glycoprotein content of lymphocystis disease virus (LCDV) [J]. Int Microbiol, 2004, 7(2): 121-126.
- [19] ESSBAUER S, FISCHER U, BERGMANN S, et al. Investigations on the ORF 167L of lymphocystis disease virus (Iridoviridae) [J]. Virus Genes, 2004, 28(1): 19-39.
- [20] KITAMURA S I, JUNG S J, KIM W S, et al. A new genotype of lymphocystivirus, LCDV-RF, from lymphocystis diseased rockfish [J]. Arch Virol, 2006, 151(3): 607-615.
- [21] HOSSAIN M, SONG J Y, KITAMURA S I, et al. Phylogenetic analysis of lymphocystis disease virus from tropical ornamental fish species based on a major capsid protein gene [J]. J Fish Dis, 2008, 31(6): 473-479.
- [22] YAN X YING, WU Z H, JIAN J C, et al. Analysis of the genetic diversity of the lymphocystis virus and its evolutionary relationship with its hosts [J]. Virus Genes, 2011, 43(3): 358-366.
- [23] 闫秀英, 吴灶和, 简纪常, 等. 淋巴囊肿病毒 *mcp* 基因变异特征及其基因型分析 [J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2011, 41(4): 39-45.
- [24] 闫秀英, 吴灶和, 简纪常, 等. 淋巴囊肿病毒中国分离株基因组序列和结构分析 [J]. 广东海洋大学学报: 自然科学版, 2011, 31(1): 1-6.
- [25] 闫秀英, 孙修勤. 淋巴囊肿病毒锌指蛋白基因 *lcn140* 的原核表达与结构分析 [J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2009, 39(6): 1219-1223.
- [26] YAN X Y, SUN X Q. Expression and analysis of putative zinc-finger protein *lcn61* gene in lymphocystis disease virus China (LCDV-cn) genome [J]. Chin J Oceanol Limnol, 2009, 27(2): 337-341.

害虫。作物籽粒及秸秆可为禽畜提供饲料,而禽畜的粪便又为农田和鱼池提供有机肥料,鱼池底泥上田作肥料。物质和能量得到充分利用,能够实现林茂粮丰、禽畜兴旺、水产丰收,得到较高的经济效益和生态效益^[4]。

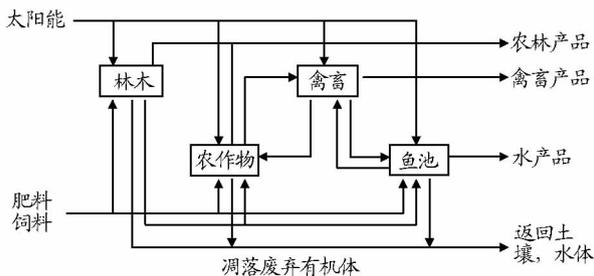


图1 农林牧渔生产体系初级模式

2.4 社会林业的外部支持系统 社会林业的外部支持系统是指存在于社会林业系统之外,但对社会林业系统的运行产生作用的多种外在因素之和,它主要包括组织系统(政府组织、非政府组织、国际组织、网络组织)、政策法规系统、金融服务系统、技术与教育系统、社会化服务系统^[5]。农村市场中,出现在生产、分配、交换、流通等领域各种问题,亟需社会林业的外部支持系统来解决。

2.5 社会林业的调查评估方法 社会林业调查评估是通过调查获得社会林业地区的自然、社会、经济条件,通过发现、分析问题,并找到解决问题的途径。社会林业调查评估重点研究的是:针对面临的问题,通过乡村群众的参与,采用激发和鼓励等方式,使他们主动提供相关资料,最终找到相应的答案。参与性农村快速调查评估方法是指结合中国国情,在学习借鉴国外经验的基础上,总结发现比较适用于中国社会林业的调查评估方法^[6]。其他调查评估方法还有情景特定分析法、问卷调查法、农村快速调查评估法等。

3 对社会林业研究的建议

3.1 保护森林 社会林业所进行的大部分活动都是以森林为主题而展开的,面对目前森林病虫害猖獗的情况,社会林业工作者不能坐以待毙。因此,森林保护应被纳入社会林业

活动计划。从某种程度上说,将社会林业理念引入到森林病虫害管理中,通过人民群众的积极参与,达到更好的森林保护效果。

3.2 充分发挥乡土知识的作用 乡土知识是指在特定地理区域的人们所拥有的知识和技术的总称^[7]。少数民族爱林、护林、营林的文化传统非常有利于社会林业活动的开展,同时也有利于少数民族地区林业和经济的发展。社会林业工作者应该充分发挥不同地区的有利于社会林业发展的乡土知识的作用。

3.3 向人民群众学习 人民群众的智慧是无穷的,社会林业工作者有必要向他们学习并取其精华。只有来自人民群众的认识,才会更多地反映人民群众的意愿与要求和更好地被人民群众所接受,这也正是社会林业研究的初衷^[8]。

3.4 将社会林业理念运用到森林增长工程 安徽省自2012年开始实施“千万亩森林增长工程”,计划到2016年,全省新增森林面积1 000万亩(66.67万 hm^2)。该项工程建设的基本原则为:坚持政府主导、全民参与;坚持改革创新、协调推进;坚持生态优先、城乡统筹;坚持绿色惠民、改善民生;坚持突出重点、分区施策;坚持因地制宜、科学造林。这6项基本原则充分强调了农民的参与性,以及对农民自身利益的保障,社会林业理念贯穿始终。发展社会林业工程是对科学发展观的贯彻落实,扩大森林资源总量的同时也保证了森林质量,有利于建立完备的森林生态体系、发达的林业产业体系和繁荣的生态文化体系,为经济社会可持续发展提供坚实的生态屏障,为建设美好安徽提供良好的生态环境。

参考文献

- [1] 马洪军. 社会林业[M]. 北京:中国林业出版社,2002.
- [2] 李维长,何丕坤. 社会林业理论与实践[M]. 昆明:云南民族出版社,1998.
- [3] 林迎星,张建国. 社会林业研究评论[J]. 林业经济,2001(10):11-15.
- [4] 孙儒永,李博. 普通生态学[M]. 北京:高等教育出版社,1993.
- [5] 张建国,林迎星. 社会林业论[M]. 北京:中国林业出版社,2002.
- [6] 何丕坤. 社会林业研究探索[M]. 昆明:云南科技出版社,1995.
- [7] 何丕坤,何俊. 乡土知识的实践与发掘[M]. 昆明:云南民族出版社,2004.
- [8] 张敏. 社会林业现状及发展趋势[J]. 世界林业研究,2003(5):35-39.

(上接第4397页)

- [27] 黄友华,孙伟,张奇亚. 淋巴囊肿病毒中国株 TNFR 类似物的原核表达与结构分析[J]. 中国病毒学,2005,20(6):652-655.
- [28] 曾首英,张奇亚,严兴洪,等. 牙鲆淋巴囊肿病毒中国株(LCDV-C) 羟类固醇脱氢酶基因的特征分析[J]. 病毒学报,2005,21(2):131-135.
- [29] ZHAO Z, SHI Y, KE F, et al. Constitutive expression of thymidylate synthase from LCDV-C induces a transformed phenotype in fish cells[J]. Virology,2008,372(1):118-126.
- [30] 刘允坤,孙修勤,黄捷,等. 牙鲆淋巴囊肿病的 PCR 诊断方法研究[J]. 高技术通讯,2002,12(11):87-89.
- [31] 孙修勤,黄捷,刘允坤,等. 牙鲆淋巴囊肿病的诊断技术研究[J]. 高技术通讯,2003,13(1):89-94.
- [32] 邢明青,孙修勤,郑风荣,等. 牙鲆淋巴囊肿病自愈过程中细胞因子的表达研究[J]. 中国海洋大学学报,2010,40(12):43-50.
- [33] CANO I, FERRO P, ALONSO M C, et al. Development of molecular techniques for detection of lymphocystis disease virus in different marine fish species[J]. J Appl Microbiol,2007,102(1):32-40.
- [34] 程顺峰. 牙鲆淋巴囊肿病毒双抗体夹心 ELISA 检测方法的建立[J]. 水产科学,2009,28(7):374-377.
- [35] CANO I, ALONSO M C, GARCIA-ROSADO E, et al. Detection of lymphocystis disease virus (LCDV) in asymptomatic cultured gilt-head seabream (*Sparus aurata* L.) using an immunoblot technique[J]. Vet Microbiol, 2006,113(1/2):137-141.
- [36] CANO I, FERRO P, ALONSO M C, et al. Application of in situ detection techniques to determine the systemic condition of lymphocystis disease virus infection in cultured gilt-head seabream, *Sparus aurata* L. [J]. J Fish Dis, 2009,32(2):143-150.
- [37] LI Q, YUE Z, LIU H, et al. Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of lymphocystis disease virus[J]. J Virol Methods,2010,163(2):378-384.
- [38] CHENG S, ZHAN W, XING J, et al. Development and characterization of monoclonal antibody to the lymphocystis disease virus of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* isolated from China[J]. J Virol Methods,2006,135(2):173-180.
- [39] 吴兴安,胡刚,李继业,等. 淋巴囊肿病毒主要衣壳蛋白基因片段原核载体的构建及表达[J]. 高技术通讯,2003,13(6):78-80.
- [40] 孙修勤,郑风荣,李继业,等. 牙鲆淋巴囊肿病毒主要衣壳蛋白基因片段真核表达载体的构建、表达与免疫效果评价[J]. 高技术通讯,2006,16(7):740-745.
- [41] 郑风荣,孙修勤,张进兴,等. 淋巴囊肿病毒核酸疫苗在牙鲆体内的表达及免疫效果评价[J]. 高技术通讯,2007,17(8):863-868.
- [42] 郑风荣,孙修勤,刘洪展,等. 牙鲆淋巴囊肿病毒核酸疫苗的安全性研究[J]. 高技术通讯,2006,16(1):106-110.