

# 锯缘青蟹 *Scylla serrata* 黄水病血液病理学分析

丁小丰, 王国良

(宁波大学 生命科学与生物工程学院, 应用海洋生物技术教育部重点实验室, 浙江 宁波 315211)

**摘要:** 对患“黄水病”锯缘青蟹(*Scylla serrata*)血液生理生化指标测定, 结果表明: 与健康蟹相比, 病蟹的蛋白质和脂质代谢存在显著差异, 尿素氮(BUN)和肌酐(GREA)含量极显著高于健康蟹, 而甘油三酯(TG)和总胆固醇(CHO)极显著低于健康蟹。病蟹血清蛋白质含量和谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、谷酰转氨酶(GGT)和乳酸脱氢酶(LDH)活性皆极显著低于对照组, 血清电解质仅  $Mg^{2+}$  极显著高于对照组。反映患黄水病锯缘青蟹的营养物质代谢发生异常, 其抗病力、消化、呼吸、排泄等方面的生理功能受到损害。

**关键词:** 锯缘青蟹(*Scylla serrata*); 黄水病; 血液病理

中图分类号: Q592

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2011)03-0064-03

锯缘青蟹(*Scylla serrata*)简称青蟹, 是我国南方沿海的重要经济养殖蟹类, 个体大, 生长快, 适应性强, 其具有很高的营养价值和经济价值。近年来, 由于养殖规模的扩大和养殖密度的提高, 加之养殖水体环境污染和种质资源下降等各种不利因素的影响, 各种养殖疾病频频暴发, 其中青蟹黄水病是危害最为严重的疾病之一, 几乎年年发生, 造成极大的经济损失。黄水病又称白水病, 黄体病, 是一类发病时段比较集中(一般在 5~9 月份)、可能由非单一病原引起的疾病的总称, 其症状具有一些显著特点<sup>[1]</sup>。通过对患病青蟹的解剖观察发现, 甲壳内充满浊白的黏性液体, 血清呈黄色、淡黄或混白色, 肝胰腺模糊呈弥散状, 肠胃空。有关青蟹黄水病的研究较多, 但其致病源和发病机制仍无统一论<sup>[1-4]</sup>。目前, 甲壳类血液病理学研究多见于虾类<sup>[5-9]</sup>, 蟹类研究较少。本研究以患黄水病锯缘青蟹血清为研究材料, 测定其生化指标, 分析生理代谢变化, 为研究锯缘青蟹黄水病发病机制提供血液病理学基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验青蟹

试验用锯缘青蟹于 2008 年 7~9 月份取自浙江省三门县的青蟹养殖塘。在黄水病发病高峰季节采集具有典型黄水病症状的自然发病青蟹, 对照采用的健康青蟹取自同一养殖区, 活力正常, 经解剖观察无任何病症, 且病原检测确保健康无病。青蟹规格皆控制在 150 g 左右。

### 1.2 测定方法

取正常蟹和患病蟹各 30 只, 将蟹体擦拭干净, 步足关节膜处用酒精棉消毒。用一次性注射器从第三步足关节膜处抽取 1.5 mL 血液, 装在 2 mL 无菌离心管中, 4℃ 放置 3~4 h 后, 5 000 r/min 冷冻离心, 吸取上清液, 低温保存, 在贝克曼生化自动分析仪上完成测定。

用统计软件 SPSS (Statistical Package for the Social Science) 16.0 对各实验组的数据进行统计分析和多重比较。

## 2 结果

### 2.1 血清糖类、脂类及蛋白质代谢产物含量的比较

糖类、脂类及蛋白质代谢产物含量见表 1。统计分析结果显示, “黄水病”锯缘青蟹血清中尿素氮(BUN)和肌酐(GREA)含量极显著高于对照的健康蟹 ( $P < 0.01$ ), 而总胆固醇(CHO)和甘油三酯(TG)含量极显著低于对照组 ( $P < 0.01$ )。血糖差异不显著, 病蟹低于健康蟹。

收稿日期: 2010-02-11; 修回日期: 2010-05-10

基金项目: 浙江省科技厅重大科技攻关项目(2005C12038); 宁波市科技攻关项目(2007C11002); 温州市科技兴海重大项目(S20080018)

作者简介: 丁小丰(1985-), 男, 江西九江人, 硕士研究生, 研究方向为水产动物疾病; 王国良, 通信作者, 电话: 0574-87600122; E-mail: wangguoliang@nbu.edu.cn

表 1 “黄水病”青蟹与对照青蟹血清中几种代谢产物含量比较

Tab. 1 Comparison of metabolites in serum between *Scylla serrata* with yellow hemolymph disease and controls

项目	对照		黄水病		增降幅度(%)
	$\bar{X}\pm SD$	变异系数(%)	$\bar{X}\pm SD$	变异系数(%)	
尿素氮( $\mu\text{mol/L}$ )	1.14 $\pm$ 0.60	52.6	3.02 $\pm$ 2.63**	87.1	166.3
肌酐( $\text{mmol/L}$ )	3.54 $\pm$ 2.36	66.5	6.45 $\pm$ 4.80**	74.5	82.0
葡萄糖( $\text{mmol/L}$ )	0.99 $\pm$ 0.67	67.7	0.62 $\pm$ 0.43	69.4	-37.4
总胆固醇( $\text{mmol/L}$ )	0.41 $\pm$ 0.12	29.1	0.14 $\pm$ 0.09**	67.9	-66.2
甘油三酯( $\text{mmol/L}$ )	0.14 $\pm$ 0.05	36.7	0.11 $\pm$ 0.06**	57.0	-22.3

注: \*\*差异极显著( $P<0.01$ );  $\bar{X}\pm SD$  为平均数 $\pm$ 标准差

## 2.2 血清蛋白质含量及酶活性的比较

血清蛋白质含量及酶活性见表 2。统计分析结果

显示,“黄水病”锯缘青蟹血清蛋白含量与酶活性皆极显著低于对照组( $P<0.01$ )。

表 2 “黄水病”青蟹与对照青蟹血清蛋白质及酶活性比较

Tab. 2 Comparison of serum protein and enzyme activity between *Scylla serrata* with yellow hemolymph disease and controls

项目	对照		黄水病		增降幅度(%)
	$\bar{X}\pm SD$	变异系数(%)	$\bar{X}\pm SD$	变异系数(%)	
总蛋白( $\text{g/L}$ )	75.66 $\pm$ 22.73	30.0	38.64 $\pm$ 16.14**	41.8	-48.9
白蛋白( $\text{g/L}$ )	10.07 $\pm$ 3.46	34.4	3.92 $\pm$ 2.04**	52.0	-61.1
谷丙转氨酶( $\text{U/L}$ )	18.04 $\pm$ 8.22	45.6	6.00 $\pm$ 4.52**	75.3	-66.7
谷草转氨酶( $\text{U/L}$ )	231.39 $\pm$ 144.33	62.4	74.02 $\pm$ 60.92**	82.3	-68.0
谷酰转氨酶( $\text{U/L}$ )	11.81 $\pm$ 5.89	49.9	7.34 $\pm$ 3.44**	46.8	-37.8
乳酸脱氢酶( $\text{U/L}$ )	60.41 $\pm$ 62.71	103.8	6.55 $\pm$ 6.65**	101.7	-89.2

注: \*\*差异极显著( $P<0.01$ );  $\bar{X}\pm SD$  为平均数 $\pm$ 标准差

## 2.3 血清电解质含量的比较

血清电解质含量见表 3。统计分析结果显示,“黄水

病”锯缘青蟹血清电解质中仅  $\text{Mg}^{2+}$  含量极显著高于对照组( $P<0.01$ ),其他电解质含量与对照组差异不显著。

表 3 “黄水病”青蟹与对照青蟹血清电解质含量的比较

Tab. 3 Comparison of serum electrolyte content between *Scylla serrata* with yellow hemolymph disease and controls

电解质浓度( $\text{mmol/L}$ )	对照		黄水病		增降幅度(%)
	$\bar{X}\pm SD$	变异系数(%)	$\bar{X}\pm SD$	变异系数(%)	
钠	441.17 $\pm$ 27.52	6.24	430.70 $\pm$ 30.01	6.97	-2.4
钾	7.47 $\pm$ 1.07	14.3	7.96 $\pm$ 1.79	22.5	6.5
钙	10.71 $\pm$ 0.68	6.3	10.87 $\pm$ 0.94	8.6	1.4
氯	403.54 $\pm$ 44.79	11.1	406.82 $\pm$ 38.74	9.5	0.8
镁	8.05 $\pm$ 0.42	5.2	9.41 $\pm$ 0.20**	2.2	16.9
磷	0.31 $\pm$ 0.14	46.0	0.27 $\pm$ 0.17	62.7	-14.2

注: \*\*差异极显著( $P<0.01$ );  $\bar{X}\pm SD$  为平均数 $\pm$ 标准差

## 3 讨论

血液组分及其含量变化与机体健康、营养状态等密切相关,当机体受到病原侵害、环境胁迫等影响时,机体的血液指标会作出相应反应。

尿素是甲壳类蛋白的代谢产物之一<sup>[10]</sup>,肌酐是酸性肌酸的降解产物,正常生理状态下,尿素和肌酐含

量相对恒定。本研究结果显示患病青蟹尿素和肌酐含量极显著高于正常青蟹,说明锯缘青蟹在患“黄水病”后,其正常排泄功能遭到破坏,排泄系统出现了障碍。甲壳类成体是依靠触角腺排泄蛋白代谢废物,另外甲壳类的鳃除呼吸作用,也兼有排泄机能。通过对病蟹的解剖,发现内脏器官已经糜烂,腮丝也已经溃烂,正常结构已经受破坏,这些都可影响到排泄机能。当这些代

代谢产物难以通过排泄系统排出体内,必然会在机体内积累,表现出尿素氮和肌酐水平极显著升高。吴垠等<sup>[6]</sup>研究中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)暴发性流行病的血液病理,发现受感染对虾的尿素和肌酐含量显著升高,且随着病情发展,血液积累的代谢产物含量会进一步升高,这与本研究结果相似。另外在一些脊椎动物血液病理研究中,也有类似的结果,周玉等<sup>[11]</sup>发现患有“狂游症”的欧洲鳗鲡(*Anguilla anguilla*)血清中尿素与肌酐含量极显著升高。病蟹血糖含量低于对照组,但未显示出统计学意义上的差异,这可能是因为机体储备的能量物质在机体能量摄入下降的情况下起到了缓冲作用。总胆固醇和甘油三酯含量极显著降低,表明脂类代谢受损,也是营养不良的表征,可能由于病蟹停止摄食和饥饿所致,因解剖发现病蟹胃肠道一般无食物,另外肝胰腺组织破坏也会导致脂类代谢功能异常。

蛋白质是生命活动的物质基础,构成细胞的重要成分,它不仅具有形成和构建新生组织,修补损伤组织和排除外源物质及坏死组织的作用,而且作为酶和部分激素,在代谢调控和生理生化反应方面具有重要的作用<sup>[12]</sup>。患有“抖抖病”的中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)血淋巴中蛋白因致病菌的侵入干扰了机体内蛋白质的生物合成,从而导致生理活动必需蛋白质的减少或缺失<sup>[13]</sup>。“黄水病”青蟹血清中总蛋白含量降低,可能也与疾病影响正常的生物合成有关,另外,由于病蟹停止摄食,营养物质摄入减少,也是导致血清蛋白含量减少的一个原因。研究发现患病青蟹的ALT、AST、GGT、LDH也极显著地降低。这些酶主要分布于组织细胞中,在正常情况下,这些酶在血清中活性很低且相对恒定,脊椎动物中,当组织发生损伤时,细胞膜通透性增加,或者通过抑制细胞线粒体的氧化磷酸化作用使细胞膜的物理通透性增加<sup>[9]</sup>,细胞中的转氨酶便大量释放出来进入血淋巴致使血清中酶活性升高,而这些酶活性的升高也预示肝脏和肾脏受到损伤,功能发生变化<sup>[11]</sup>。患病对虾中也发现ALT和LDH有同样的变化趋势<sup>[6]</sup>。这与本研究结论不一致,经解剖显现病蟹肝胰腺和肌肉组织已糜烂而萎缩,甚至液化,组织结构不完整或无法分辨,这可能已影响酶的正常合成,最终导致释放的酶量减少,血清酶活性也相应下降。推测青蟹病变过程中,也可能出现ALT、AST等酶活性的升高,而后随着组织结构和功能破坏严重,酶活性又迅速下降。病蟹血清Mg<sup>2+</sup>含量极显著高于对照组,可能与病蟹排泄器官出现障碍有关,但其

他电解质含量没有表现出具有统计学意义上的变化,值得进一步研究。

青蟹黄水病是一种全身性疾病,病变不只是发生在某特定组织,患病青蟹的呼吸系统、消化系统、排泄系统均发生功能障碍。从分析结果推测,潜在的病原可能通过影响和损伤青蟹的肝胰腺等与消化、排泄等功能相关器官,从而引起功能失调,当器官组织和功能损伤超过机体的耐受极限,难以通过自我修复机制得到恢复时,便进一步引发机体其他生理病变,表现出典型的黄水病症状。

黄水病初期症状不显著,当出现明显症状时,蟹往往已经濒临死亡,此时任何防治措施都不能见效。由此,作者认为黄水病应该以防为主,特别在黄水病暴发季节,应注重养殖水环境的调控,尽量减少环境对青蟹的胁迫影响,降低养殖青蟹的应激反应,努力优化稳定而良好的环境条件是防控锯缘青蟹黄水病发生和发展的重要措施。

#### 参考文献:

- [1] 毛芝娟,卓华龙. 锯缘青蟹细菌性传染病的病原菌研究[J]. 水产科学. 2001, 20(1): 8-12.
- [2] 纪荣兴,黄少涛. 锯缘青蟹“黄体病”病原菌的研究[J]. 台湾海峡. 1998, 17(4): 473-476.
- [3] 韩新全. 锯缘青蟹黄水病及并发病的综合控制措施[J]. 科学养鱼. 2005, 7: 56.
- [4] 许文军,施慧,徐广庆,等. 锯缘青蟹黄水病病原研究及综合防控初报[J]. 中国水产. 2006, 8: 54-57.
- [5] 罗日祥. 中国对虾血淋巴蛋白质、葡萄糖含量的研究[J]. 海洋与湖沼[J]. 1996, 27(5): 476-481.
- [6] 吴垠,邢殿楼,祝国芹,等. 中国对虾暴发性流行病的血液病理研究[J]. 中国水产科学, 1998, 5(3): 53-58.
- [7] 张吕平,胡超群,吴灶和. 实验感染白斑杆状病毒(WSBV)的斑节对虾血液病理学研究[J]. 热带海洋. 2000, 19(3): 1-8.
- [8] 许宏庆,崔勇华,李晶,等. 镉对克氏原螯虾血清中部分生化指标的影响[J]. 水利渔业. 2006, 26(5): 6-9.
- [9] 魏育红,洪培君,朱越雄. 汞对克氏原螯虾血清部分生化指标的影响[J]. 水利渔业. 2007, 27(5): 29-31.
- [10] Dall W, Smith D M. Oxygen consumption and ammonia-N excretion in fed and starved tiger prawns, *Penaeus esculentus* Haswell[J]. Aquaculture, 1986, 55(1): 23-33.
- [11] 周玉,郭文场,杨振国,等. 欧洲鳗鲡“狂游病”血液生化指标研究[J]. 水生生物学报. 2002, 26(3): 314-316.
- [12] 孔祥会,边中春,王桂忠,等. 温度骤降对锯缘青蟹可溶性蛋白与可溶性糖含量的影响[J]. 河南师范大学学报(自然科学版). 2005, 33(3): 98-102.
- [13] 薛俊增. 患“抖抖病”中华绒螯蟹可溶性蛋白质和同工酶分析[J]. 动物学杂志. 2002, 37(2): 17-22.

(下转第 82 页)

## Spectrophotometric determination of mucopolysaccharide from different parts of sea cucumber with methylene blue

WANG Ze-wen<sup>1,2</sup>, LENG Kai-liang<sup>1</sup>, ZHAI Yu-xiu<sup>1</sup>, SUN Wei-hong<sup>1</sup>, XING Li-hong<sup>1</sup>, MIAO Jun-kui<sup>1</sup>

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Department of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China)

**Received:** Dec., 21, 2009

**Key words:** sea cucumber; acid mucopolysaccharide; methylene blue; spectrophotometry

**Abstract:** Mucopolysaccharide from different parts of sea cucumber was measured by spectrophotometrically at 564 nm with methylene blue. In the pH range of 5 ~ 6, the anionic mucopolysaccharide reacted with methylene blue. The absorbance was in good linearity in the concentration range of 4 ~ 20 mg/L. The recoveries of this method were in the range of 78.33% ~ 100.09%, the RSD < 10%, and the limits of detection (LODs) 0.79mg/L. The results showed that the content of acid mucopolysaccharide in the body was the highest, followed in turn by those of the ovum and the intestine.

(本文编辑: 康亦兼)

---

(上接第 66 页)

## Haemolymph pathological analysis on “yellow hemolymph disease” of *Scylla serrata*

DING Xiao-feng, WANG Guo-liang

(Faculty of Life Science and Biotechnology, Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

**Received:** Feb., 11, 2010

**Key words:** *Scylla serrata*; yellow hemolymph disease; Haemolymph Pathology

**Abstract:** Physiological and biochemical indices were monitored for haemolymph in 30 mud crab, *Scylla serrata* infected with “yellow hemolymph disease”. Experimental data indicated that the diseased crabs showed very significant difference in protein and lipid metabolism in serum in comparison to the controls. BUN and GRE content of diseased crabs were significant higher than those of the healthy ones, but TG and CHO contents were very significant lower than the controls. The activities of ALT, AST, GGT and LDH declined significantly. In addition, in all serum electrolytes, only Mg<sup>2+</sup> content was very significantly higher in comparison to the controls. These results indicate that the nutrition metabolism of *S. serrata* infected with “yellow hemolymph disease” is abnormal, causing the damage of digestion, respiration and excretion as well as resistance to disease.

(本文编辑: 张培新)