

基于鲎试剂生产的中国鲎血液质量监测方法研究

贾久满, 粟双婷, 黄慧灵, 黄鸿期, 唐冬, 周琦, 余柳俊, 陈金文, 贾玉珍, 韦莉念, 廖永岩

(广西北部湾海洋生物多样性养护重点实验室 北部湾大学海洋学院, 广西 钦州 535011)

摘要: 为了研究中国鲎血液质量的监测方法, 实验选择 9 只中国鲎检测其血液中铜含量、血细胞数量、血浆蛋白含量、血淋巴蛋白含量等指标, 并进行相关性分析。结果表明, 中国鲎血液中铜含量与血细胞数相关性 $r=0.917$, 与血浆蛋白含量相关性 $r=0.995$, 与血淋巴蛋白含量相关性 $r=0.983$, 均呈现极显著相关性。中国鲎血液中铜含量与血细胞数的相关关系为 $Y_1=6.14+0.86X(R^2=0.840)$, 与血浆蛋白含量的相关关系为 $Y_2=2.08+0.78X(R^2=0.989)$, 与血淋巴蛋白含量的相关关系为 $Y_3=1.87+0.62X(R^2=0.966)$ 。中国鲎血液中铜含量不但能够直接反映血蓝蛋白的含量, 而且可以反映血细胞数、血浆蛋白含量、血淋巴蛋白含量。因此, 以中国鲎血液中铜含量作为监测血液质量的指标, 可以推动中国鲎可持续采血技术的发展与完善, 对中国鲎的利用与保护具有重要意义。

关键词: 中国鲎; 血液质量; 监测方法; 铜含量

中图分类号: P745 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2022)12-0177-06

DOI: 10.11759/hyxx20200810003

鲎(Horseshoe crab), 隶属于节肢动物门(Arthropoda)、肢口纲(Merostomata)、剑尾目(Xiphosura), 世界上只有中国鲎和美洲鲎可以生产鲎试剂, 所以按来源鲎试剂可分为两种, 一种是中国鲎试剂(Tachypleus amebocyte lysate, 缩写为 TAL), 原材料为中国鲎血液; 另一种是美洲鲎试剂(Limulus amebocyte lysate, 缩写为 LAL), 提取自美洲鲎的血液^[1]。中国鲎是我国生产鲎试剂重要的海洋药用生物资源。目前采集鲎血比较常规的方式主要是人们趁着鲎靠近海岸交配时将其捕获, 采集 1/5~1/3 的血量, 每只鲎大约采 100 mL 血液, 采完血的鲎在当天带到距被捕地大约 120 km 的地方放生, 防止短时间再次被捕采血。研究显示适量采血不会影响鲎的生活和生殖能力, 但需要足够的时间才能使采血鲎恢复健康^[2]。即便在操作较为规范的美, 对鲎的生存依然存在较大的影响。研究人员在马萨诸塞州的海湾针对美洲鲎做了实验, 采血即便不会致命, 但也会影响美洲鲎活动水平、运动速度和潮汐节律表现, 这些变化可能会干扰美洲鲎的活动以及产卵, 也会让雌鲎降低交配几率, 并追踪到有 18% 的美洲鲎在采血后死亡。与美洲鲎相比, 中国鲎面临着更大的威胁, 采血不规范、放生保护措施不到位、过度取血, 甚至直接把鲎血抽干, 这些杀鸡取卵式的采血方法造成很多被

采血的中国鲎难逃一死。中国鲎从受精卵至性成熟需要 13~15 年的时间^[3], 种群数量恢复缓慢, 由于市场对鲎试剂巨大的需求, 导致中国鲎的种群数量持续下降。

中国鲎的一些种群已经从它们原来的活动范围内消失了, 包括中国的台湾、香港、浙江、福建以及日本的海岸线^[4-5]。珠江口以北的海域已很难发现中国鲎, 北部湾海域成为中国鲎最后的栖息地, 但数量也在快速减少。1990 年以前北部湾海域成年中国鲎的数量可达 60~70 万对, 到 2000 年已降至约 30 万对^[6]。根据广西北部湾海洋生物多样性养护重点实验室的调查, 目前, 广西北部湾海域成年的中国鲎数量仅为 1 万对左右, 资源几近枯竭。2019 年 3 月 23 日, 中国鲎在世界自然保护联盟(IUCN)红色名录里的等级从原本的数据缺乏

收稿日期: 2020-08-10; 修回日期: 2020-10-08

基金项目: 北部湾大学海洋科学广西一流学科(DRC001); 广西北部湾海洋生物多样性养护重点实验室(北部湾大学)自主课题(2022ZB02)

[Foundation: Marine Science Guangxi First-Class Subject, Beibu Gulf University, No. DRC001; Guangxi Key Laboratory of Beibu Gulf Marine Biodiversity Conservation, Beibu Gulf University, No. 2022ZB02]

作者简介: 贾久满(1968—), 男, 河北迁西人, 硕士, 教授, 主要研究方向为动物营养与饲料, E-mail: jiajm12@163.com; 廖永岩(1965—), 通信作者, 男, 湖南保靖人, 硕士, 教授, 主要研究方向为海洋生物学, E-mail: rock6783@126.com

(DD)更新为濒危(EN)^[7]。作为濒危物种,同时又面对巨大的市场需求,改变传统的采血方式,开展人工养殖条件下的中国鲎可持续性采血已势在必行。这就需要把在自然海域捕获的中国鲎驯养在池塘中,然后定期定量对鲎进行采血,并确保鲎的成活率,提高鲎的利用率,实现可持续性多次采血,从而减少中国鲎的捕获量,以保护中国鲎的种群数量不再减少。

由于中国鲎在养殖与采血过程中会受到气候、水质、摄食等多种因素的影响,血液的再生与恢复并非总是一样的,如果采血以后中国鲎的血液没有得到很好的恢复而继续按照原来的计划定期定量采血,势必直接影响到中国鲎的健康甚至造成其死亡。因此,针对人工养殖条件下的中国鲎可持续性采血,亟须建立一种简便、高效、快捷的基于连续采血的中国鲎血液质量监测方法。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 中国鲎

把从北部湾海域捕获的中国鲎暂养在海边的水塘中 2 星期,然后随机捕捞 9 只体长 30 cm 左右、体重 300 g 左右、年龄大约 4~5 岁的雄性中国鲎转移至实验室的循环水养殖系统中,分别标记为 P1、P2、P3、P4、P5、P6、P7、P8、P9。养殖用水取自广西三娘湾海域的海水,盐度 25,养殖温度 26~28 °C,每周投喂鱼肉 2 次。

1.1.2 试剂

双缩脲法蛋白含量检测试剂盒 BC3185:规格 100 管/96 样,购买自北京索莱宝科技有限公司。

Cu(GSBG62024-90)、Fe(GSBG62020-90)、Zn(GSBG62025-90)、Mn(GSBG62019-90)、Cd(GSB04-1721-2004)、Cr(GSBG62017-90)、Pb(GSB04-1742-2004)标准溶液:规格 50 mL,元素含量 1 000 μg/mL 购买自国家钢铁材料测试中心钢铁研究总部。

抗凝剂:用茶碱(≥98%)和 NaCl 配制盐度 25、茶碱物质的量浓度 0.5 mol/L 的溶液作为抗凝剂。

1.2 方 法

1.2.1 取 样

中国鲎在实验室静养 4 周后进行取样,把中国鲎放入经紫外线灭菌的超净台内,用碘伏消毒液对

其背侧胸腹连接处的心门位置消毒处理,然后用 75%的乙醇擦去碘伏。取 20 mL 的无菌注射器先吸入 10 mL 的抗凝剂,用注射针头从胸腹关节处刺入心门,抽取血液 10 mL,混匀备用。

1.2.2 血细胞计数

血细胞计数板及相关用品 180 °C 烘干 6 h,取鲎血样品经抗凝剂稀释后滴入血细胞计数板,在显微镜下计数,重复 3 次,取平均值中国鲎血细胞数量(BBC)。

1.2.3 血浆蛋白与血淋巴蛋白的检测

多功能酶标仪预热 30 min 以上,调节波长至 540 nm,蒸馏水调零。取中国鲎血样品 1 mL 放入经灭菌处理的离心管 10 000 r/min 离心 10 min,按照双缩脲法蛋白含量检测试剂盒说明书的要求,制备空白管、标准管,用鲎血和血浆分别制备测定管,每个样品制备 3 个测定管,然后用酶标仪测定并计算蛋白含量,取 3 个重复的平均值,即为血浆蛋白含量(PPC)。取中国鲎血样品直接按上述方法检测,即为血淋巴蛋白含量(BPC)。

1.2.4 微量元素和重金属的测定

精确称取鲎血样品 10 mL,把样品放入坩埚中,在电炉上小火加热,炭化至无烟,转移至马弗炉中,500 °C 恒温灰化 5 h,然后加入适量 1:1 的盐酸溶解后定容至 10 mL,用 AA-7000 系列原子吸收光谱仪火焰法测定铜元素含量。

1.2.5 统计分析

采用 WPS2019 表格对实验数据进行整理、统计,采用 SPSS22 进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 中国鲎血液质量指标检测结果

中国鲎血液质量指标检测结果见表 1,中国鲎血液中 Cu 含量为 0.94~18.00 mg/L,平均(8.33±5.82) mg/L;血细胞数为 $2.80 \times 10^3 \sim 22.00 \times 10^3$ 个/mL,平均(13.31±5.46)×10³ 个/mL;血浆蛋白含量为 2.26~15.42 mg/mL,平均(8.54±4.54) mg/mL;血淋巴蛋白含量为 2.54~12.99 mg/mL,平均(7.07±3.70) mg/mL。

2.2 中国鲎血液质量指标相关性分析

中国鲎血液质量指标相关性与显著性见表 2,中国鲎血液中铜元素含量、血细胞数、血浆蛋白含量以及血淋巴蛋白含量等 4 种血液质量指标相互间均呈极显著相关。

表 1 中国鲎血液质量指标检测结果(n=9)

Tab. 1 Test results of *Tachypleus tridentatus* blood quality index (n=9)

检测项目	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	$\bar{x} \pm sd$
铜含量/(mg·L ⁻¹)	18.00	11.60	2.80	10.40	12.20	11.30	6.50	1.24	0.94	8.33±5.82
血细胞数/(×10 ³ mL ⁻¹)	22.00	16.57	11.33	15.87	15.97	15.17	10.00	10.10	2.80	13.31±5.46
血浆蛋白含量/(mg·mL ⁻¹)	15.42	11.93	4.30	10.43	11.10	11.10	7.31	3.01	2.26	8.54±4.54
血淋巴蛋白含量/(mg·mL ⁻¹)	12.99	9.87	3.18	8.51	8.13	9.90	5.61	2.88	2.54	7.07±3.70

表 2 中国鲎血液质量指标相关性与显著性(n=9)

Tab. 2 Correlation and significance of blood quality indexes in *Tachypleus tridentatus* (n=9)

血液质量指标	相关性与显著性	铜含量	血细胞数	血浆蛋白含量	血淋巴蛋白含量
铜含量	相关性 <i>R</i>	1.000	0.917**	0.995**	0.983**
	显著性 <i>P</i>	—	0.001	0.000	0.000
血细胞数	相关性 <i>R</i>		1.000	0.924**	0.903**
	显著性 <i>P</i>		—	0.000	0.001
血浆蛋白含量	相关性 <i>R</i>			1.000	0.988**
	显著性 <i>P</i>			—	0.000
血淋巴蛋白含量	相关性 <i>R</i>				1.000
	显著性 <i>P</i>				—

注: **表示相关性极显著; —表示不作显著性分析

2.2.1 血液中铜含量与血细胞数的相关关系

由表 1、2 和图 1 可知, 中国鲎血液中铜含量与血细胞数呈极显著相关, 其换算关系为:

$$Y_1 = 6.14 + 0.86X, \quad (1)$$

式中, Y_1 为中国鲎血细胞数(×10³/mL), X 为中国鲎血液中铜含量(mg/L)。

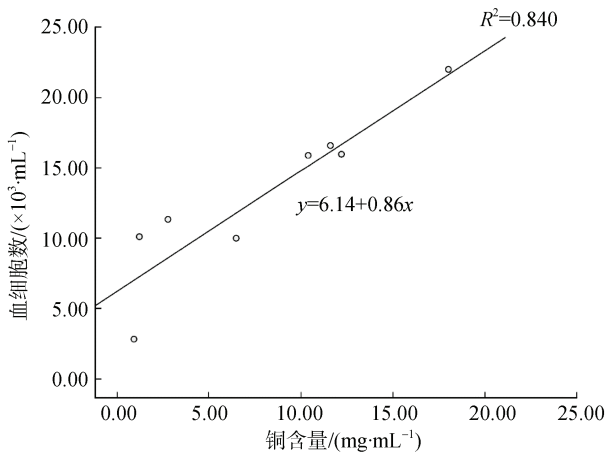


图 1 中国鲎血液中铜含量与血细胞数的相关关系

Fig. 1 Correlation between blood copper content and blood cell count in *Tachypleus tridentatus*

2.2.2 血液中铜含量与血浆蛋白含量的相关关系

由表 1、2 和图 2 可知, 中国鲎血液中铜含量与血浆蛋白含量呈极显著相关, 其换算关系为:

$$Y_2 = 2.08 + 0.78X, \quad (2)$$

式中, Y_2 为中国鲎血浆蛋白含量(mg/mL), X 为中国鲎血液中铜含量(mg/L)。

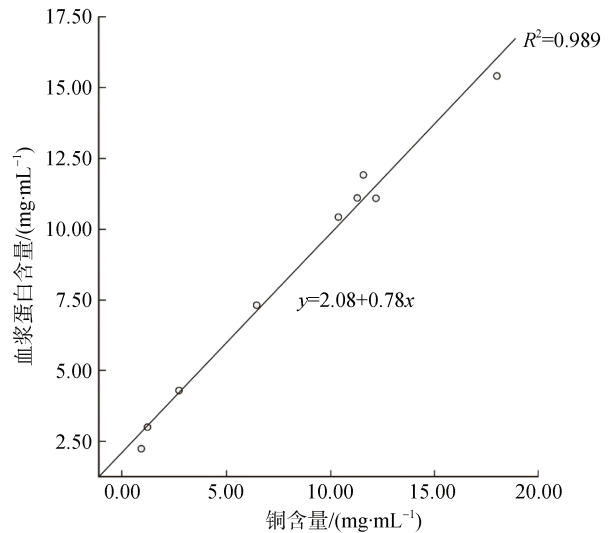


图 2 中国鲎血液中铜含量与血浆蛋白含量的相关关系
Fig. 2 Correlation between blood copper content and plasma protein content in *Tachypleus tridentatus*

2.2.3 铜含量与血淋巴蛋白含量的相关关系

由表 1、2 和图 3 可知, 中国鲎血液中铜含量与血淋巴蛋白含量呈极显著相关, 其换算关系为:

$$Y_3 = 1.87 + 0.62X, \quad (3)$$

式中, Y_3 为中国鲎血淋巴蛋白含量(mg/mL), X 为中国鲎血液中铜含量(mg/L)。

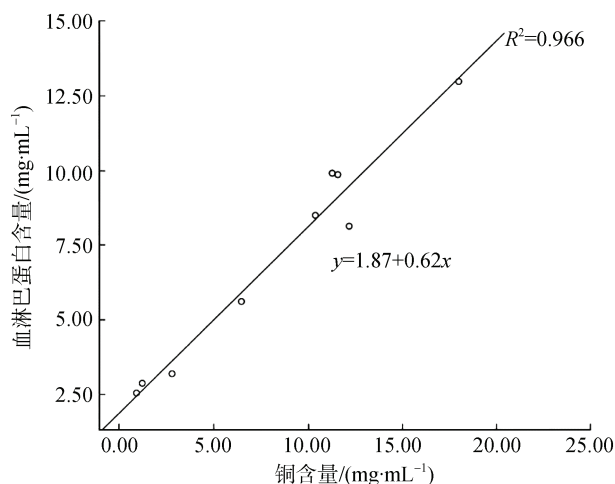


图3 中国鲎血液中铜含量与血淋巴蛋白含量的相关关系
Fig. 3 Correlation between blood copper content and hemolymph protein content in *Tachypleus tridentatus*

3 讨论

3.1 中国鲎血液质量监测方法可以推动可持续采血技术的发展与完善

在鲎试剂的研究报道中,一方面在鲎试剂对内毒素的作用机理与鲎试剂的生产等研究领域,周海钧报道了鲎试剂对内毒素凝集作用的机理,说明用东方鲎试剂代替常规的家兔法检测注射液中的热原在理论上是可行的^[8]。刘端华等报道了东方鲎试剂质量和中试工艺的研究^[9]。李桂香等开展了鲎试剂法对血液保养液热原的检测,取得良好效果^[10]。王志光等建立了一种从商品化中国鲎试剂中快速分离凝固蛋白原的方法^[11]。孙萍等比较了鲎试剂法与家兔法测定刺五加注射液热原,结果证明鲎试剂法不仅快速、简单、准确灵敏,而且经济方便^[12]。罗茵等报道了细菌内毒素分析仪利用从东方鲎血液中提取C因子、G因子和凝固酶原等活性成分,分别于血液细菌内毒素和真菌葡聚糖产生凝集反应,判断革兰氏阴性细菌和真菌感染程度,鲎试剂已成为细菌内毒素检查法的重要试剂^[13]。

另一方面,对于中国鲎的人工养殖与定期采血制备鲎试剂的研究也有部分报道,吴伟洪等的实验表明把捕捉到的中国鲎进行人工饲养,定期抽血制备鲎试剂是可行的^[14]。李建鑫研究了鲎的人工养殖及鲎试剂的制备^[15]。顾功超尝试了在人工饲养条件下连续抽血制备鲎试剂是可行的^[16]。梁广耀等经过16个月的人工养殖和反复抽血,表明只要抽血量合

理和抽血间隔时间恰当,鲎的存活率和变形细胞数都比较接近对照组的数据,说明完全可以达到反复采血抽取鲎试剂的目的^[17]。刘端华等用人工饲养的鲎抽血制备鲎试剂,在第一次抽血后,血液中变形细胞就有减少的趋势,经三次抽血后变形细胞数显著减少,同时血液颜色变淡,甚至变成白色,这意味着无法多年人工饲养抽血^[18]。到目前为止,尚未见到在鲎试剂生产过程中对中国鲎血液质量进行监测的相关报道。由于对中国鲎是否能够连续采血存在完全相反的结论,所以,建立基于鲎试剂生产的中国鲎血液质量的监测方法,不但可以减少不当采血对中国鲎健康造成的影响,而且可以推动中国鲎可持续采血技术的发展与完善,促进鲎试剂生产向更加科学、规范的方向发展,对中国鲎的利用与保护具有重要意义。

3.2 中国鲎血液质量监测指标的选择

中国鲎的血液通常称为血淋巴,血淋巴由血细胞和血浆组成。血细胞包括两种,即占比达99%的血细胞和少量的血蓝细胞,血细胞也称颗粒细胞,成年鲎只含有血细胞。鲎的血细胞中含有能与内毒素起凝集作用的酶系统,可以用于生产鲎试剂,因此,鲎血中的血细胞数量不但反映了鲎的血液恢复状态,也决定了鲎试剂生产的效率。血浆是血细胞的载体,对内环境的稳态起着决定性作用。血浆蛋白包括血蓝蛋白、 α_2 -巨球蛋白、C-反应蛋白,其中血蓝蛋白是一种可溶性的呼吸蛋白,占血浆蛋白的90%~95%。铜元素是血蓝蛋白的重要组成成分,血蓝蛋白的每个氧结合位点有2个铜离子,血液中铜的含量能够准确反映血蓝蛋白的含量。因此,选择中国鲎血液中铜元素含量、血细胞数、血浆蛋白含量以及血淋巴蛋白含量作为监测中国鲎的血液质量指标。

3.3 中国鲎血液中铜含量作为质量监测指标的可行性

中国鲎的血细胞具有容易凝集的特点,在进行中国鲎血细胞计数时要求全程无菌操作,实验条件较为苛刻,稍有不慎就可能影响实验结果。即使严格地执行无菌操作,如果多次采血,中国鲎的血细胞也同样可能出现凝集,影响血细胞计数。而血浆蛋白含量、血淋巴蛋白含量的检测需要购买试剂盒进行生化反应,对实验设备和实验条件要求较高,同时需要消耗大量的试剂盒等材料,还要付出人力成本和时间成本。铜元素是血蓝蛋白的重要组成成分,血蓝蛋白的每个氧结合位点有2个铜离子,血液中铜

的含量能够准确反映血蓝蛋白的含量。但是,如果在生产鲎试剂的过程中全部监测上述 4 种指标,无疑会给生产企业造成沉重的负担。既能准确反映中国鲎血液质量的变化情况,又能简化流程,减少人力、物力以及财力的消耗就显得尤其重要。

在本实验中,中国鲎血液中铜元素含量、血细胞数、血浆蛋白含量、血淋巴蛋白含量等数值均出现了较大波动,可能是由于实验所用的中国鲎经历了从大海到池塘、从池塘到实验室的不同的养殖环境,由于不同个体对新的环境适应能力不同而造成了的差异。但各指标之间的相关关系均呈极显著相关,说明这种数量的波动是中国鲎个体差异造成的,而不是实验误差的影响。

血液中铜含量不但能够直接反映血蓝蛋白的含量,而且由于铜含量与血细胞数、血浆蛋白含量、血淋巴蛋白含量等指标均呈现极显著相关性,可以换算成血细胞数、血浆蛋白含量、血淋巴蛋白含量。与上述几种指标的检测方法相比,铜元素的检测不会受到血液变质、细胞凝集等因素的干扰,检测方法除了原子吸收光谱法以外,还可以采用电化学分析法,检测设备价格更低,检测条件更容易实现。所以,选择血液中铜含量来监测中国鲎血液质量是可行的。

4 结论

中国鲎血液中铜含量不但能够直接反映血蓝蛋白的含量,而且由于铜含量与血细胞数、血浆蛋白含量、血淋巴蛋白含量等指标均呈现极显著相关性,可以换算成血细胞数、血浆蛋白含量、血淋巴蛋白含量。因此,以中国鲎血液中铜含量作为监测血液质量的指标,具有简便、高效、快捷、省时、省力和省钱的特点。在鲎试剂生产中对中国鲎血液质量进行监测可以减少不当采血对中国鲎健康造成的影响,对中国鲎的利用与保护具有重要意义。

参考文献:

[1] 洪水根. 中国鲎生物学研究[M]. 厦门: 厦门大学出版社, 2011.
HONG Shuigen. Study on the Biology of *Limulus* ame-bocyte[M]. Xiamen: Xiamen University Press, 2011.

[2] 颜明艳, 王月, 顾华鑫, 等. 鲎试剂产业在中国的发展现状及相关建议[J]. 生物学杂志, 2018, 35(2): 88-91.
YAN Mingyan, WANG Yue, GU Huaxin, et al. Current situation of *tachypleus* ame-bocyte lysate industry in

China and relevant suggestions[J]. *Journal of Biology*, 2018, 35(2): 88-91.

[3] 李琼珍. 中国鲎保育工作研究进展[J]. 生物学杂志, 2010, 27(4): 71-74.
LI Qiongzhen. Research progress on conservation of *Limulus* ame-bocyte lysate in China[J]. *Chinese Journal of Biology*, 2010, 27(4): 71-74.

[4] KWAN B K Y, HSIEH H L, CHEUNG S G, et al. Present population and habitat status of potentially threatened Asian horseshoe crabs *Tachypleus tridentatus* and *Carcinoscorpius rotundicauda* in Hong Kong: A proposal for marine protected areas[J]. *Biodiversity and Conservation*, 2016, 25(4): 673-692.

[5] SEINO S, UDA T, TSUCHIYA Y, et al. Conservation history of horseshoe crab *Tachypleus tridentatus* and its spawning ground, a designated natural monument in Kasaoka Bay in Okayama Prefecture[C]// GODA Y, KIOKA W, NADAOKA K. Asian and pacific coasts 2003- proceedings of the 2nd international conference. Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd, 2003: 551-556.

[6] 廖永岩, 李晓梅. 中国海域鲎资源现状及保护策略[J]. 资源科学, 2001, 23(2): 53-57.
LIAO Yongyan, LI Xiaomei. Present situation of *Limulus* ame-bocyte lysate resources and conservation strategy in China[J]. *Resources Science*, 2001, 23(2): 53-57.

[7] The IUCN red list of threatened species[DB/OL]. [2019-3-23]. <https://www.iucnredlist.org/search?query=Tachypleus%20tridentatus&searchType=species>.

[8] 周海钧. 热原的本质及鲎试剂的进展[J]. 中国药学杂志, 1988, 23(5): 275-278.
ZHOU Haijun. Nature of pyrogen and progress of *Limulus* ame-bocyte lysate[J]. *Chinese Journal of Pharmacy*, 1988, 23(5): 275-278.

[9] 刘端华, 丁友玲, 林嘉富. 东方鲎试剂质量和中试工艺的研究[J]. 医药工业, 1983(8): 14-20.
LIU Duanhua, DING Youling, LIN Jiafu. Study on the quality and pilot test process of *Limulus* Ame-bocyte lysate[J]. *Pharmaceutical Industry*, 1983(8): 14-20.

[10] 李桂香, 蔡新民. 关于鲎试剂法测定血液保养液热原的方法[J]. 山西医药杂志, 1993, 22(3): 187.
LI Guixiang, CAI Xinmin. Determination of pyrogen in blood maintenance fluid by *Limulus* ame-bocyte lysate[J]. *Shanxi Medical Journal*, 1993, 22(3): 187.

[11] 王志光, 杜良成. 中国鲎试剂中凝固蛋白原的快速纯化[J]. 昆明医学院学报, 1995, 16(2): 18-21.
WANG Zhiguang, DU Liangcheng. Rapid purification of coagulation proteinogen from *Limulus* ame-bocyte lysate[J]. *Journal of Kunming Medical College*, 1995, 16(2): 18-21.

[12] 孙萍, 崔秀娟, 刘莹, 等. 鲎试剂法与家兔法测定刺五加注射液热原比较[J]. 牡丹江医学院学报, 1993(S1): 97.

- SUN Ping, CUI Xiujuan, LIU Ying, et al. Comparison of Limulus ameocyte lysate assay and rabbit assay for determination of pyrogen in Ciwujia injection[J]. Journal of Mudanjiang Medical College, 1993(S1): 97.
- [13] 罗茵, 方琼玟. 破解“蓝血”的秘密 鲎试剂确保 24 亿人次用药安全[J]. 海洋与渔业, 2019(3): 34-35.
- LUO Yin, FANG Qiongwen. Cracking the secret of “Blue Blood” Limulus ameocyte lysate to ensure the safety of 2.4 billion times of medication[J]. Ocean and Fisheries, 2019(3): 34-35.
- [14] 吴伟洪, 魏达成. 用人工饲养的鲎制备鲎试剂[J]. 中国药学杂志, 1980, 15(10): 8-9.
- WU Weihong, WEI Dacheng. Preparation of Limulus Ameocyte lysate by artificial feeding[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 1980, 15(10): 8-9.
- [15] 李建鑫. 鲎的人工养殖及鲎试剂的制备[J]. 饲料博览, 2001(2): 40.
- LI Jiaxin. Artificial culture and preparation of Limulus Ameocyte lysate[J]. Feed Review, 2001(2): 40.
- [16] 顾功超. 鲎和鲎的饲养[J]. 海洋渔业, 1980(1): 8-10.
- GU Gongchao. Feeding of horseshoe crab and horseshoe crab[J]. Marine Fisheries, 1980(1): 8-10.
- [17] 梁广耀, 叶王戟. 中国鲎(*Tachypleus tridentatus*)人工养殖的初步研究[J]. 海洋湖沼通报, 1984(4): 51-57.
- LIANG Guangyao, YE Wangji. A preliminary study on the culture of *Tachypleus tridentatus*[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 1984(4): 51-57.
- [18] 刘端华, 林嘉富, 郑丽莉, 等. 东方鲎人工饲养抽血制备鲎试剂的实验考察[J]. 中草药, 1983, 14(7): 38-41.
- LIU Duanhua, LIN Jiafu, ZHENG Lili, et al. Preparation of Limulus Ameocyte lysate by artificial feeding and blood drawing[J]. Chinese Herbal Medicine, 1983, 14(7): 38-41.

Blood quality indexes in *Tachypleus tridentatus* for the production of *Tachypleus ameocyte lysate*

JIA Jiu-man, SU Shuang-ting, HUANG Hui-ling, HUANG Hong-qi, TANG Dong, ZHOU Qi, YU Liu-jun, CHEN Jin-wen, JIA Yu-zhen, WEI Li-nian, LIAO Yong-yan
(Guangxi Key Laboratory of Beibu Gulf Marine Biodiversity Conservation, College of Marine Sciences, Beibu Gulf University, Qinzhou 535011, China)

Received: Aug. 10, 2020

Key words: *Tachypleus tridentatus*; blood quality; monitoring method; copper content

Abstract: To study the different blood quality indexes in *Tachypleus tridentatus* and their relationships with each other, nine animals were selected. Their blood was assayed for its copper content, cell count, plasma protein content, and lymphatic protein content, and a correlation analysis was performed. Copper content was found to be correlated with cell count ($r=0.917$), plasma protein content ($r=0.995$), and lymphatic protein content ($r=0.983$). The relationship of copper content with these three parameters was established to be $Y_1=6.14+0.86X$ ($R^2=0.840$), $Y_2=2.08+0.78X$ ($R^2=0.989$), and $Y_3=1.87+0.62X$ ($R^2=0.966$), respectively. The blood copper content not only directly reflects the hemocyanin content but also the cell count, plasma protein content, and lymphatic protein content. Therefore, blood copper content can be used as an index to monitor blood quality in *T. tridentatus*. The implications of our study can promote the development and perfection of sustainable blood collection methods for *T. tridentatus*, which can help protect these animals.

(本文编辑: 杨 悦)