

中华绒螯蟹颤抖病研究进展

Approaches to “appendage shivering disease” in *Eriocheir sinensis*

方 敏^{1,2}, 宋林生¹, 崔朝霞¹

(1. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛, 266071 2. 中国科学院 研究生院, 北京 100039)

中图分类号 S94 文献标识码 A 文章编号 1000-3096(2005)01-0064-03

中华绒螯蟹俗称河蟹, 是中国著名的淡水蟹, 具有重要的经济价值, 从 80 年代以来河蟹养殖业发展迅速, 已成为水产养殖支柱产业之一。但随着河蟹养殖规模的不断扩大, 病害问题日趋严重, 造成了巨大的经济损失。在河蟹众多病害中, 颤抖病是最为常见、危害最严重的一种, 此病又称抖抖病、环爪病、宽爪病、抖脚病等, 因发病时病蟹步足呈间歇性痉挛状抖动而得名。河蟹颤抖病为爆发性疾病, 死亡率很高, 有的地方发病率高达 90% 以上, 死亡率达 70% 以上, 发病严重的水体甚至导致绝产, 损失惨重^[1]。该病自 1994 年首次在江苏被发现后, 相继在上海、浙江、安徽、江西等地出现, 并呈现逐年加剧趋势, 目前几乎已蔓延到全国各河蟹养殖区。目前围绕病因、病原等方面已开展了大量研究, 也取得了一定的进展, 但仍有不少问题尚待解决。作者从发病症状、流行情况、病因病原、致病机理等方面对该病的研究现状进行了综述, 并提出展望, 以期今后研究提供参考。

1 发病症状

发病初期, 病蟹摄食量减少, 甚至完全停止进食。活动能力微弱, 反应迟钝, 行动缓慢、蟹足的握力减弱、退壳困难, 常因退不了壳而死亡。病蟹离水后, 附肢常环绕紧缩, 将身体抱作一团, 或撑开爪尖着地; 若将步足拉直, 松手后又立即缩回, 故被称为“环腿病”、“宽爪病”、“弯爪病”。随着病情发展, 步足爪尖枯黄, 易脱落, 蟹足下垂无力, 掌节以及指节常出现红色水锈, 接着步足僵硬, 呈连续颤抖, 口吐泡沫, 不久便死亡, 因此被称为“颤抖病”或“抖抖病”。解剖病蟹, 可以发现肌肉萎缩, 鳃丝肿大, 严重时鳃呈铁锈色或微黑色, 三角膜肿胀, 体腔严重积水, 胃肠无食。血淋巴稀薄, 凝固缓慢或不凝固; 心脏、腹节神经肿大, 心跳乏力 肝胰腺呈淡黄色、严重时呈灰白色。

2 流行情况

流行区域: 1994 年, 最早发生于江苏, 但未引起重视。1995 年后, 相继在浙江、安徽、上海等地发作。目前, 已蔓延到全国各地, 疫情严重。发病季节: 江浙一带为 4~10 月, 8~9 月为高峰期。温度: 水温为 20~35℃, 以 25~28℃最为严重, 20℃以下的水体极少发病。易感对象: 从幼蟹到成蟹均可发病, 但以 100 g 以上的 2 龄蟹为主, 死亡率高达 100%。当年繁殖生长的 1 龄蟹发病率较低。

3 病因、病原

3.1 病毒

何介华^[2]在病蟹胃组织细胞质内质网中, 观察到病毒样颗粒及略小于细胞核大小的病毒包埋体样结构。后来, 陆续有报道^[3~5], 在病蟹鳃、心脏、腹神经节、肠和肝胰腺等组织中, 均发现了大量病毒粒子, 形状为球形或圆形, 颗粒直径从 30 nm 到 80 nm 不等, 颗粒可辨; 是否有囊膜, 说法不一; 一般不形成包涵体; 病变组织细胞经 PAS 和 Fuelgen 染色后, 分布病毒的细胞浆部位均呈阴性反应, 表明该病毒的核酸组成为 RNA; 根据形态、性质确定为小 RNA 病毒科病毒。用组织匀浆液进行感染试验, 颤抖病成功地得到复制。另有报道^[6,7], 直接从发病个体中分离、纯化病原, 在电镜下观察到大量球状病毒颗粒, 直径约 50~60 nm, 通过进一步试验, 初步推断为 RNA 病毒或呼肠弧病毒样病毒 (Reovirus-like virus); 用病毒粗提液进行人

收稿日期 2002-06-03 修回日期 2002-10-27

基金项目 国家重点基础研究发展规划项目 (G1999012008)

作者简介 方敏 (1975-), 男, 湖南岳阳人, 博士生, 现从事海洋生物技术方面的研究, E-mail: fangmin@ms.qdio.ac.cn; 宋林生, 通讯作者 (1966-), 男, 研究员, 博士, E-mail: lsh-song@ms.qdio.ac.cn

工感染,颤抖病可得到复制。

3.2 细菌

陆宏达等^[8]从腹水病河蟹(其中部分个体有颤抖现象)中分离到2株嗜水气单胞菌和1株拟态弧菌;经人工感染,均可引起大量腹水,心脏肿大,但未出现步足抖动现象;据此认为腹水病河蟹伴有颤抖现象,可能是细菌和病毒混合感染的结果。也有人在患颤抖病河蟹体内发现有大量细菌,并分离到一株呼肠弧菌,进行回归感染,颤抖病得到复制,因此提出颤抖病也有可能由细菌引起。同时在实验中还发现,由呼肠弧病毒和呼肠弧菌引起的河蟹颤抖病,外表上很相似,但后者在发病后期,步足产生卷曲、上翘,因此建议分别叫做河蟹病毒性颤抖病和河蟹细菌性颤抖病^[9]。余为一等^[10],从患颤抖病病蟹中分离到一株假单胞菌,进行回归感染,颤抖病得到复制,初步断定该菌为致病性病原。

3.3 类立克次体

顾志峰等^[11-13]报道在患颤抖病河蟹的肌肉、鳃、肠、心脏和性腺等组织中,均存在类立克次体生物(Rickettsia-like organisms, 简称 RLOs),该 RLOs 呈球状或棒状,直径约为 $0.22 \sim 0.35 \mu\text{m}$,具有细胞壁和细胞膜,没有典型的细胞核,在细胞中央有类似核区的结构。用患病河蟹的血液注射进行回归感染,颤抖病得到复制。

3.4 环境及其它

潘连德等^[4]认为基本上可以排除细菌、病毒、寄生虫等病原生物致病的可能性,推测主要是因环境中的毒害物质,严重损害肝胰腺等重要器官而导致发病^[14]。另有认为颤抖病为条件致病,即河蟹本身带有病原但不致病,一旦环境发生变化,如突然降大雨等,病原微生物便大量繁殖,刺激机体“应急反应”,造成抵抗力下降,或产生致病因子使河蟹发病^[10,15]。还有报道认为温度是引发颤抖病的主要外部因素,其理由是因为河蟹春季发病率很低,随水温升高,发病率明显增加,夏季尤为严重^[3,4,10,11]。

4 致病机理

通过超微病理观察,陆宏达等^[3]发现病蟹鳃、心脏、腹节神经中病毒颗粒大量成片聚集,并侵入线粒体,造成线粒体肿大、嵴断裂、扭曲或溶解消失等严重损伤;而线粒体中多种酶类参与细胞内的生化活动,并且提供活动所需能量,所以线粒体的病变,直接影响到机体的生命活动;心肌纤维中线粒体病变,导致供能不足,心力衰竭,血淋巴液循环受阻;鳃组织细胞内线粒体病变,直接影响气体交换;因此与呼吸相关的心脏和鳃功能的丧失可能导致河蟹死亡;腹节神经

细胞内线粒体病变以及神经细胞的坏死分解,不仅影响能量供应,而且还影响信息传递,推测它是导致病蟹步足颤抖的主要原因。也有报道^[11-13],通过组织、细胞超微病理研究,河蟹发病初期血细胞中观察到少量 RLOs;发病晚期 RLOs 大量存在于鳃腔、心、附肢肌肉、消化道、消化腺和结缔组织及神经胶质;推测 RLOs 可能在血细胞繁殖,主要攻击血细胞中的小颗粒细胞,以它为滋生地和传播体;RLOs 成熟后,小颗粒细胞破裂瓦解,大量 RLOs 释放,进一步感染其它细胞或组织,从而使河蟹致病。还有人认为河蟹颤抖病是一种严重的器官损害性疾病。肝胰腺重要功能之一是分解毒物,患病河蟹的肝胰腺发生严重病变,使肝功能受到严重影响,毒物积累,进一步损害其它组织、器官,如神经系统,导致运动调节紊乱、反应迟钝等临床症状^[14]。

5 预防措施

预防和控制河蟹颤抖病的爆发是一项复杂的系统工程,必须采取综合预防措施,从病原、环境和河蟹本身三方面同时入手开展工作。

5.1 病原控制

养殖水体及河蟹体内存在许多种病原微生物,控制和消灭病原是实现病害控制必不可少的一环。对发病蟹池及工具进行彻底消毒;不从疫区引入蟹种,并对蟹种消毒;及时杀灭河蟹体外寄生虫;颤抖病流行期间进行药物预防,具体可以采用外泼消毒药及内服药相结合的办法进行综合控制。

5.2 环境治理

只有在良好的生态环境里,河蟹才能健康快速生长,为河蟹营造一个良好的生态环境非常重要,如及时清除池底过多的淤泥,并进行消毒。因为淤泥中有大量的有机物,其分解要消耗大量的溶解氧,容易造成蟹池溶氧供应不足;在缺氧时,有机物厌氧分解,产生硫化氢、亚硝酸盐等有毒物质。还可以定期外泼生石灰,必要时可泼光合细菌、水质改良剂等,以改善水质。另外,可在蟹池中适当种植水草。它可以吸收水体及淤泥中的肥料,减轻富营养化,而水草进行光合作用,可增加水中溶解氧。

5.3 养殖技术改善

可以引进多元化养殖(混养)技术,即将生态位不同、习性和行为互利或相容的种类,按适当的比例与河蟹搭配养殖在同一水体,从而充分利用水体空间、饵料资源,强化水体中物质循环,保持养殖系统稳定,使河蟹健康成长;另外,通过投喂含有免疫增强剂(如多糖、蛋白质、维生素等)的饵料,可以激活河蟹的非

特异性免疫体系,改善其免疫能力,从而增强抗病力。

5.4 种质改良

种质遗传改良,增强抗病能力是预防河蟹颤抖病的重要途径之一。用不同种或不同种群的个体杂交,也可以用野生的、抗病力强的亲本进行长期反复选育,而获得具有较强抗病性状的品种;研究不同种群或个体之间抗病力的差异,筛选与之连锁的分子遗传标记进行标记辅助选育,培育抗特定抗原(SPR)的养殖品种;克隆筛选抗病功能基因,研究不同种群或个体抗病功能基因结构或表达差异,通过比较抗病功能基因及其表达和个体抗病力的关系建立抗病选育的标准进行有效的选育。同时还可以利用重组DNA和转基因技术,对这些重要抗病功能基因进行体外修饰和改造,然后转入河蟹体内,培育出具有抗病力强的转基因河蟹。

6 研究展望

尽管围绕河蟹颤抖病病因、病原进行了大量工作,也取得了一定进展,但迄今为止,在确定颤抖病的主要病因、病原方面仍未达成共识,主要有病毒性疾病、细菌性疾病、类立克次体疾病、环境毒物疾病等几种观点。首先,河蟹体内以及养殖水体中微生物的多样性可能是颤抖病病原难以确定的主要原因;其次,也可能与不同学者在不同地区取样有关,即存在地区局限性。当然,也有可能是多种病原都可以引起颤抖病的症状,即存在多种类型的颤抖病。因此,在病因、病原定论之前,这方面的研究工作仍将开展,并不断深入。一旦病原确定,就需要对其生物学、遗传学特征及检测技术进行研究,因此病原分子生物学及分子诊断技术将是本领域的主要研究方向,它包括对病原的基因组学研究以及分子快速检测技术的建立等。

在致病机理方面,众多观点大多从组织、细胞病理学角度出发,即较多运用传统的病理学理论,对病原的致病机理进行初步探讨,尚缺乏有说服力的实验证据,大都出于推测,所以对于颤抖病发生的确切机理尚不清楚,这方面的工作也将继续开展。运用现代病理学理论和技术方法来研究河蟹颤抖病的致病机理,可望取得重要进展。在治疗技术方面,迄今很少见有成功的、针对性的报道,大多只是为了应急,临时指导蟹农使用抗生素或杀菌剂之类的药物,其治疗效果不但不显著,解决不了根本问题,反而提高了病原的抗药和耐药性,对环境也造成了污染。因此研制高效、无污染、无毒副作用的药物势在必行。

生态环境方面,有报道环境因子可能引发河蟹颤抖病,但大多是出于推测,至今尚无直接的证据。因此,研究外部环境因子与河蟹颤抖病发病关系将具有十分重要的意义。通过流行病学调查研究,弄清影响

河蟹和病原微生物的关键性环境因子及其在疾病发生中的作用,主要病原微生物的宿主范围、在河蟹体内中的连续动态分布、强度及其与发病死亡的回归关系等,从而建立流行病学的基本模式。在此基础上,就有可能有的放矢地隔离病原,改善环境条件,消除不利因素,以实现河蟹的健康养殖。

参考文献:

- [1] 黄琪琰. 河蟹颤抖病的研究现状[J]. 科学养鱼, 2000(10): 13-14.
- [2] 何介华, 贺路, 曾令兵, 等. 中华绒螯蟹颤抖病病原的初步研究[J]. 淡水渔业, 1999, 29(3): 10-11.
- [3] 陆宏达, 金丽华, 薛美. 中华绒螯蟹小核糖核酸病毒病及其组织病理学[J]. 水产学报, 1999, 23(1): 61-68.
- [4] 沈锦玉, 钱冬, 刘问, 等. 中华绒螯蟹病毒病病原的初步研究[J]. 华中农业大学学报, 2000, 19(5): 487-489.
- [5] 孙学强, 郭爱珍, 陆承平. 中华绒螯蟹颤抖病的人工复制试验[J]. 南京农业大学学报, 2000, 23(1): 74-76.
- [6] 陈辉, 薛仁宇, 贡成良. 中华绒螯蟹1种球形病毒颗粒的电镜观察[J]. 中国水产科学, 1999, 6(3): 114-115.
- [7] 薛仁宇, 贡成良, 曹广力, 等. 中华绒螯蟹颤抖病的一种病原特性初步研究[J]. 水利渔业, 2000, 20(6): 46-48.
- [8] 陆宏达, 金丽华, 范丽萍, 等. 中华绒螯蟹细菌性病原的分离和鉴定[J]. 水产学报, 1999, 23(4): 381-386.
- [9] 魏育红, 薛仁宇, 贡成良, 等. 呼肠孤病毒引起河蟹颤抖病的人工感染与药物防治研究[J]. 内陆水产, 2001(4): 9-10.
- [10] 余为一, 李樵年, 祖国掌. 一株中华绒螯蟹病原菌的研究初报[J]. 安徽农业大学学报, 1999, 26(2): 174-177.
- [11] 顾志峰, 王文, 杜开河, 等. 中华绒螯蟹“颤抖病”病原、病理学初步研究[J]. 湖泊科学, 2000, 12(4): 367-372.
- [12] 王文, 顾志峰, 朱宁宁, 等. 患颤抖病中华绒螯蟹体内类立克次体侵染的光镜和电镜观察[J]. 中国水产科学, 2001, 8(4): 32-35.
- [13] Wang W, Gu Z. Rickettsia-like organism associated with tremor disease and mortality of the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* [J]. Dis Aquat Organ, 2002(2): 149-153.
- [14] 潘连德. 养殖河蟹“抖抖病”的病原检验与病理学初步研究[J]. 水产科技情报, 1998, 25(6): 273-277.
- [15] 李华, 刑殿楼, 白国福, 等. 弗氏柠檬酸杆菌对河蟹致病性的研究[J]. 水生生物学报, 2001, 25(3): 217-223.

(本文编辑 刘珊珊)