

一例天津源患螺原体病中华绒螯蟹主要组织病理分析

刘 群^{1,2*}, 孙 妍^{1,2}, 董学旺^{1,2}, 陈浩楠^{1,2}, 魏俊利^{1,2}

¹天津市动物疫病预防控制中心, 天津

²天津市水生动物疫病监测中心, 天津

收稿日期: 2022年7月25日; 录用日期: 2022年8月22日; 发布日期: 2022年9月1日

摘要

应用组织病理学方法对天津地区首例患螺原体病中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)眼柄视神经节、肝胰腺、胸腹神经团、肌、心脏、肠及鳃组织进行病理分析。结果显示, 病蟹对外界刺激不敏感, 附肢环爪状紧缩, 呈间歇性痉挛状抖动; 表明患病蟹主要组织器官发生不同程度病理变化, 主要表现为: 眼柄视神经节整体结构界限不清, 神经细胞间隙扩大, 部分细胞空泡化, 受损严重; 鳃组织细胞广泛变性, 鳃叶腔扩张, 鳃叶间隙可见较多小瓜虫寄生; 肝胰腺组织细胞水肿、变性, 小管间隙被血淋巴浸润; 肠组织除部分基膜坏死及血淋巴浸润外, 组织结构基本正常; 肌组织纤维排列紊乱, 部分肌纤维肿胀、溶解、坏死, 纤维间隙较大; 胸腹神经团大部分神经细胞空泡变性, 细胞核崩解; 心脏组织部分心肌纤维浊肿, 横纹消失、坏死; 其中, 鳃叶腔、肝胰腺小管间隙、肌结缔组织、胸腹神经团中疏松结缔组织以及心肌纤维间结缔组织均被嗜酸性菌体浸润。综上所述, 眼柄视神经节、鳃、肝胰腺、肌、胸腹神经团、心脏组织可能是病原体侵染中华绒螯蟹的主要组织器官, 导致以上组织器官发生严重组织病变, 使得机体进行正常新陈代谢能力降低, 最终因病原体侵染以上组织而导致组织器官功能衰竭可能是病蟹死亡的主要原因。

关键词

中华绒螯蟹, 螺原体病, 组织病理

Histopathological Observation of Chinese Mitten Crab, *Eriocheir sinensis* Infected by *Spiroplasma eriocheiris* from Tianjin District

Qun Liu^{1,2*}, Yan Sun^{1,2}, Xuewang Dong^{1,2}, Haonan Chen^{1,2}, Junli Wei^{1,2}

*通讯作者。

文章引用: 刘群, 孙妍, 董学旺, 陈浩楠, 魏俊利. 一例天津源患螺原体病中华绒螯蟹主要组织病理分析[J]. 微生物前沿, 2022, 11(3): 169-176. DOI: 10.12677/amb.2022.113021

¹Animal Disease Prevention and Control Center of Tianjin, Tianjin

²Tianjin Surveillance Center of Aquatic Animal Infections Disease, Tianjin

Received: Jul. 25th, 2022; accepted: Aug. 22nd, 2022; published: Sep. 1st, 2022

Abstract

Histopathological methods was used to analysis the histopathological changes in major tissues of Chinese mitten crab, including eyestalk optic ganglia, hepatopancreas, thoracic ganglion mass, muscle, heart, intestinal and gill, which was first reported to be infected by *Spiroplasma eriocheiris* in Tianjin district. Results showed that the diseased crabs were insensitive to external stimuli, the appendages were tightened around and intermittently appendage shaking; there were different degrees of pathological characteristics on those tissues, which were mainly performance as follows. The boundary of the overall structure on the eyestalk optic ganglia was not clearly defined, the gap of nerve cell enlarged, some cells vacuolarized, and seriously damaged; the gill tissue was extensively denatured, the gill cavity dilated, some ichthyophthirius were seen in the space of gill lamellae; hepatospanic cells were edematous and degenerated, the tubular space was infiltrated by hemolymphysis; the intestinal was basical normal except for partial basal membrane necrosis and hemolymphic lymph infiltration; the myofiber was arranged in disorder, and part was swollen, dissolved, and necrotic, the gap of fiber was larger; most of the nerve cells became vacuole degenerate in thoracic ganglion mass, the nuclei disintegrated; part of the fibers was opathic in heart, the striations disappeared. Above all, the gill cavity, the tubular space, the connective tissue of muscle, the loose connective tissue of thoracic ganglion mass and the connective tissue between myocardial fibers were infiltrated with eosinophilic bacteria. This study confirms that the above seven damaged tissues were supposed to be the major target organs, causing serious pathological changed, and organism metabolism capacity decreased, which could be the major reason of the disease and the death of *Eriocheir sinensis*.

Keywords

Eriocheir sinensis, *Spiroplasma eriocheiris* Disease, Histopathological Observation

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)又名河蟹，广泛分布于我国沿海、湖泊等地，具较高经济价值，是我国特有淡水经济养殖品种，伴随着水产养殖业快速发展，水域环境日趋恶化，病害造成的经济损失愈来愈大。由螺原体(*Spiroplasma eriocheiris*)引起的河蟹颤抖病由农业农村部发布的最新版《一、二、三类动物疫病病种名录》列为三类动物疫病，并修改为河蟹螺原体病[1]。该病已在多种水生甲壳动物中广泛传播，如中华绒螯蟹(*E. sinensis*) [2]、克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*) [3]、凡纳滨对虾(*Penaeus vannamei*) [4]、罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*) [5]、日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*) [6]，对经济水生甲壳动物养殖业的健康发展带来巨大危害，威胁我国水产养殖业可持续发展。

螺原体是 20 世纪 70 年代 Cole 等[7]通过形态观察和超微结构首次发现的一类寄生于植物和陆生昆虫体内的具螺旋形态、无细胞壁、快速运动能力的原核微生物，大部分具有严重致病性[8]，其在分类学上属于柔膜体纲(Mollicutes)、虫原体目(Entomoplasmatales)、螺原体科(Spiroplasmataceae)、螺原体属(*Spiroplasma*)，一直认为在自然界中只有植物和昆虫两大类寄主。有关中华绒螯蟹颤抖病病原的发现是一个漫长而又复杂的过程，先后经历细菌、病毒、水体养殖环境及多病原共同作用致病的过程[9]。2002 年王文首次从中华绒螯蟹体内分离到螺原体(*S. eriocheiris*)，并证实其为中华绒螯蟹螺原体病元凶[10]，并获得广泛认可。至此，从中华绒螯蟹中发现螺原体(*S. eriocheiris*)改变了学术界对螺原体寄主范围的认识，将螺原体的分布范围从陆地扩大到水域、从植物和陆生昆虫扩大到水生动物[11]。

2021 年 8 月，天津市宁河区某养殖场发现部分发病严重中华绒螯蟹常爬出水面，对外界刺激不敏感，附肢呈间歇性痉挛抖动状、环抱紧缩，与患螺原体病中华绒螯蟹附肢常出现剧烈颤抖的典型发病症状[12]相近。据此，我中心通过分子生物学方法、人工感染试验等方法在患病中华绒螯蟹中首次检出螺原体并证实从患病中华绒螯蟹分离所得螺原体是引起本案例中华绒螯蟹大量死亡的致病原，此前，该病原在天津地区养殖中华绒螯蟹均未检出，亦没有相关报道。本研究以一例源自天津地区患螺原体病的中华绒螯蟹为研究对象，对其主要病灶组织，包括眼柄视神经节、肝胰腺、胸腹神经团、肌、心脏、肠及鳃组织，进行组织病理观察与分析，以初步阐述患螺原体病中华绒螯蟹主要组织病理变化。

2. 材料与方法

2.1. 实验用蟹

患螺原体病和健康中华绒螯蟹(*E. sinensis*)均采自天津市宁河区某中华绒螯蟹养殖场，体质量 50g 左右，以病蟹步足间歇性痉挛状抖动的中华绒螯蟹[13]作为病理学研究材料。同时，挑选活动正常，通过感官判断无病理症状，且与发病蟹处于同一发育时期的中华绒螯蟹，采用细菌 16S rDNA 通用引物[14]、真菌 18S rDNA 通用引物[15]及螺原体 16S rRNA~23S rRNA 间区特异性引物[16]进行分子生物学指标判定，确认无病原体后作为对照样品使用。

2.2. 实验用蟹样品取样

无菌条件下分别解剖健康蟹及症状典型病蟹，并剪取眼柄视神经节、肝胰腺、胸腹神经团、肌、心脏、肠及鳃组织，参考刘群等[17]所述方法进行组织样品固定。

2.3. 石蜡切片制备与观察

用于组织病理观察的组织块于 Davidson's AFA 固定液固定 24 h 后置于体积分数 70% 乙醇，参考刘群等[18]所述使用石蜡切片机(RM2235, Leica)将其制备成厚度约 5 μm 组织切片，并经苏木精 - 伊红染色后封片，于光学显微镜(BX43, Olympus)下进行观察。

3. 结果

3.1. 病蟹临床症状

通过对该中华绒螯蟹养殖场进行流行病学调查得知，患病初期病蟹症状不明显，摄食量减少，行动趋缓；患病后期病蟹常爬出水面，活力降低，且对外界刺激不敏感，步足常环绕紧缩，呈环爪状，或爪尖着地，支撑蟹体一定高度，均呈间歇性痉挛状抖动，且将病蟹腹部向上后不能自行翻身；濒死蟹鳃呈灰白色，步足僵硬、蜷缩、上翘，血淋巴稀薄，心脏跳动乏力，肝胰腺呈灰白色或淡黄色，肠中无食糜(图 1)。



Figure 1. Clinical symptoms of diseased *E. sinensis* cultured in the temporary pond

图 1. 养殖场采集病蟹临床症状

3.2. 组织病理观察

3.2.1. 眼柄视神经节病理观察

病蟹眼柄视神经节结构紊乱、排列不规则，外髓、内髓、端髓的整体结构界限不清，神经细胞间隙扩大，部分细胞空泡化，受损严重(图 2(A))。对比健康蟹眼柄视神经节为乳白色，由两个大小不等的不规则椭圆形球体组成，外髓、内髓、端髓结构清晰(图 2(D))，位于内髓与端髓交界处的窦腺呈囊状，且靠近端髓。

3.2.2. 鳃组织病理观察

病蟹鳃组织角质层、上皮细胞层及柱状细胞广泛变性，细胞肿胀、间隙极不明显，排列紊乱，细胞核肿大，部分核固缩，大部分区域细胞坏死，部分鳃叶腔扩张，并充斥大量嗜酸性菌体，鳃叶间隙可见较多具马蹄形内核的小瓜虫(图 2(B))。对比健康蟹鳃组织细胞界限清晰、排列整齐，角质层、上皮细胞层、柱状细胞及细胞核清晰可见(图 2(E))。

3.2.3. 肝胰腺组织病理观察

病蟹肝胰腺组织部分细胞水肿、变性，细胞排列可见轻度紊乱，肝胰腺小管间隙中存在血淋巴浸润，并堆积大量嗜酸性菌体，且上皮细胞间界限较模糊，排列层次增多，存在大量空泡并游离于小管腔，部分细胞核坏死、消失(图 2(C))。对比健康蟹肝胰腺组织结构界限清晰，肝胰腺小管上皮细胞呈柱状，核多位于基底部，呈椭圆形或圆形，排列紧密、整齐(图 2(F))。

3.2.4. 肠组织病理观察

病蟹肠组织除部分基膜坏死及血淋巴浸润外，其它部位与正常蟹肠组织结构基本一致，无明显病理变化(图 3(A))。健康蟹肠组织包括由单层柱状细胞组成的上皮层、基膜、由疏松结缔组织构成的结缔组织层、由环肌组成的肌肉层以及由网状围绕在肠管外的嗜碱性不连续细胞层构成，各层结构基本正常、排列有序，相对较整齐，除部分部位存在血淋巴浸润外，没有明显病理变化出现(图 3(E))。

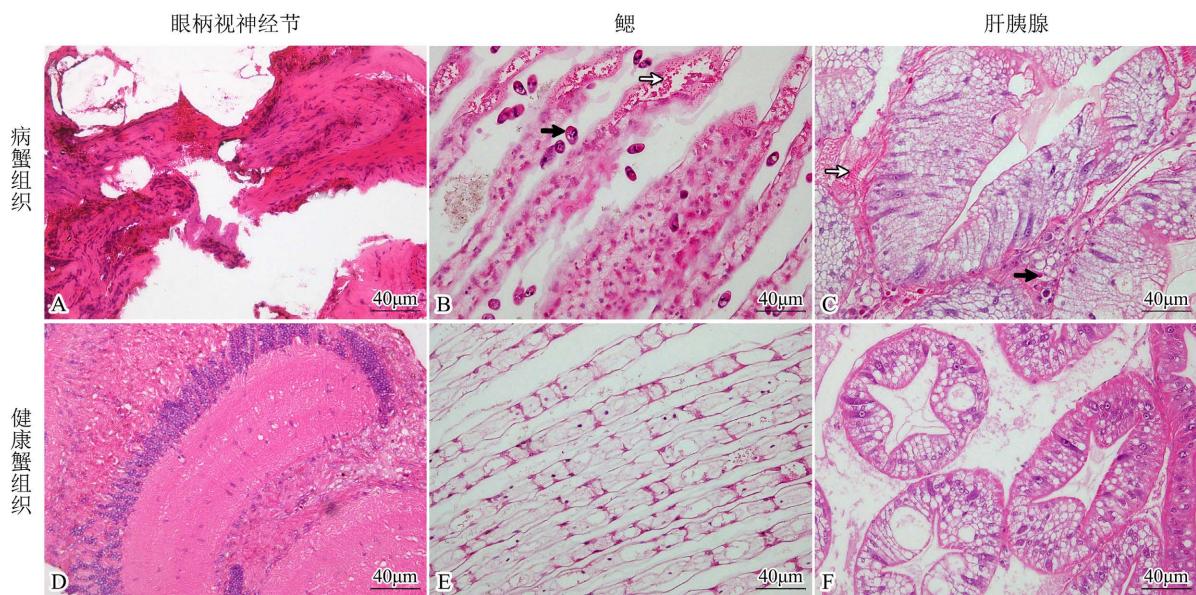


Figure 2. Major histopathological changes of the diseased and healthy *E. sinensis* on eyestalk optic ganglia, gill and hepatopancreas

图 2. 病蟹与健康蟹眼柄视神经节、鳃和肝胰腺组织病理

3.2.5. 肌组织病理观察

病蟹肌纤维排列紊乱，轻度变性，部分肌纤维肿胀断裂、溶解、坏死，部分细胞完全溶解消失，肌纤维束排列较松散、不规则，纤维间隙较大，且其结缔组织被呈嗜酸性菌体浸润(图 3(B))。对比健康蟹肌纤维排列较整齐、规则，肌纤维间的肌质网密集，横纹肌横纹清晰，可见位于细胞边缘呈圆形的嗜碱性细胞核(图 3(F))。

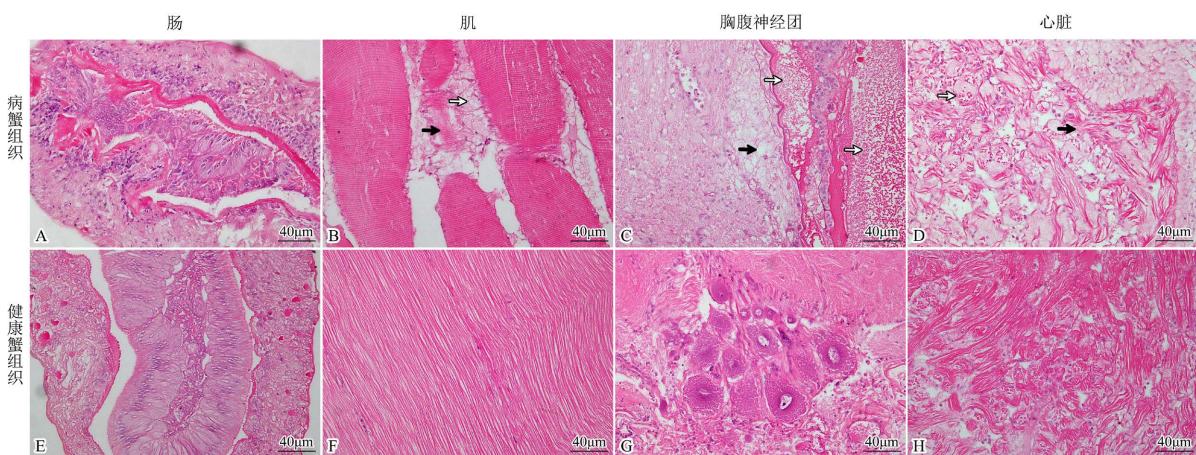


Figure 3. Major histopathological changes of the diseased and healthy *E. sinensis* on intestinal, muscle, thoracic ganglion mass, and heart

图 3. 病蟹与健康蟹肠、肌、胸腹神经团和心脏组织病理

3.2.6. 胸腹神经团病理观察

病蟹大部分神经细胞发生空泡变性，部分神经节细胞肿大、空泡变性，尼氏颗粒溶解，细胞核崩解，疏松结缔组织被呈嗜酸性菌体浸润(图 3(C))。中华绒螯蟹胸腹神经团靠近腹甲中央，呈圆盘状，胸动脉

由中央圆孔穿过；可发出多对神经，包括两侧对称的步足神经愈合为胸神经节、胸动脉孔前方的食道下神经节以及后端中央发出的一条较粗的腹神经。另外，在胸腹神经团中部还可观察到许多纵行神经束和横连神经。健康蟹神经节由神经细胞、神经胶质细胞、疏松结缔组织等组成，近核膜处的尼氏体分布紧致而略呈黑色小块状结构，细胞核为圆形或长椭圆形，各部分组成规整有序(图 3(G))。

3.2.7. 心脏病理观察

病蟹心脏组织部分心肌纤维浊肿，部分空泡变性，横纹消失、坏死，心肌纤维间结缔组织被嗜酸性菌体浸润(图 3(D))。健康蟹心肌纤维具分支横纹，彼此连接成网，核椭圆形，位于细胞边缘(图 3(H))。

4. 讨论

中华绒螯蟹螺原体病是危害中华绒螯蟹养殖业最严重的一种疫病。该病自上世纪 90 年代首次在江苏发现，之后陆续在上海、浙江、江西等地发现，并呈现逐年加剧趋势，对全国中华绒螯蟹主要养殖区都存在一定程度威胁，我国将其列为三类动物疫病[1]。2016 年开始，天津市动物疫病预防控制中心(原天津市水生动物疫病预防控制中心)开展了天津地区中华绒螯蟹螺原体病的流行病学调查工作，经过多年连续性流行病学监测，直至 2021 年 8 月在天津地区养殖中华绒螯蟹中首次检出螺原体。

王文等通过病原学、病理学、微生物学研究，最终首次从水生甲壳动物体内发现并分离到螺原体新物种，并正式将中华绒螯蟹螺原体命名为：*Spiroplasma eriocheiris* sp. Nov. [19] [20] [21]。现有研究表明，螺原体具有不同于其它陆生螺原体的独特感染方式和途径^[2-3]。螺原体通过鳃或外壳进入蟹体后，能够特异性到达小颗粒细胞中增殖形成包涵体，并随血液循环达到机体其它部位，同时在胞浆内大量繁殖形成包涵体，导致宿主细胞破裂，释放出的螺原体再感染其它靶细胞和组织，如鳃、心肌、附肢肌肉、消化道、消化腺、结缔组织和神经组织等，引起机体附肢无力、食欲不振，最终侵染神经组织引起附肢颤抖直至死亡[10] [22] [23] [24] [25] [26]。

甲壳动物神经内分泌系统包括 X 器官 - 窦腺复合体(XO-SG)、围心腺(PG)、Y-器官(YO)、雄性腺(AG)、大颚器(MO)等，其中位于眼柄的 X 器官 - 窦腺复合体(XO-SG)被认为是甲壳动物内分泌调控中心[27]，在结构和功能上相当于哺乳动物的下丘脑 - 垂体系统，调控着虾、蟹等甲壳动物的生长、发育、代谢、生殖成熟等重要生理活动[28]。迄今已从眼柄中分离纯化出 6 种重要的肽类神经激素，如蜕皮抑制激素(MIH)、甲壳动物高糖激素(CHH)、性腺抑制激素(GIH)、促色素细胞激素和大颚器抑制激素(MOIH) [29]。中华绒螯蟹眼柄视神经节由外髓、内髓和端髓组成，其中端髓体积最大，外髓次之，内髓最小；X 器官位于端髓外缘视神经节处，能够分泌多种神经肽激素，调节性腺发育、蜕皮、糖代谢及对环境的适应反应；窦腺位于内髓和端髓交界处背侧，活体状态呈乳白色、扁球状，储存和释放 X 器官神经细胞分泌的激素[24] [28]。由此可见，中华绒螯蟹眼柄视神经节组织结构的正常与否对机体能否维持正常新陈代谢和机能活动，以及对调控机体发挥正常生理功能具有极其重要的作用。

本研究对患螺原体病中华绒螯蟹主要组织进行组织病理观察，结果发现眼柄视神经节、鳃、肝胰腺、肌、胸腹神经团、心脏和肠组织均发生不同程度病理变化，且结缔组织多被嗜酸性菌体浸润，其中，眼柄视神经节受损伤最严重，鳃、肌、胸腹神经团、心脏和肝胰腺组织次之，肠组织受损伤程度相对较轻。推测螺原体侵染中华绒螯蟹时具有广泛的组织分布并能够引起不同程度的组织病理损伤。这与连林坤[13]对患颤抖病中华绒螯蟹进行免疫组化分析认为螺原体可侵染蟹体所有组织，具有广泛侵染性，但只侵染与肌肉和结缔组织有关的组织和细胞，具有严格的组织特异性，推断与肌无力和步足阵发性颤抖症状有密切关系；以及与方敏等[30]对患颤抖病中华绒螯蟹 6 种组织进行病理分析认为患病河蟹各组织器官发生不同程度病变，尤以鳃、心脏和肝胰腺组织病变严重，且鳃、心脏、肝胰腺、腹节神经可能时病原体感染河蟹的主要靶组织器官的结论相近。不同之处在于，连林坤[13]、方敏等[30]未对患病中华绒螯蟹眼柄

视神经节进行病理观察与分析，未能得出本研究所述眼柄视神经节外髓、内髓、端髓的整体结构界限不清，相较其它组织结构受损伤程度更为严重，推测眼柄视神经节在中华绒螯蟹螺原体病致病过程中发挥与其生理功能相匹配的调控作用，导致机体行使正常生理功能受到一定程度影响，而机体肌无力和附肢间歇性痉挛抖动可能与其组织功能受损有密切关系，但尚需进一步研究证实。

本研究运用组织病理学方法对天津地区一例新发患螺原体病中华绒螯蟹主要组织进行病理观察与分析，旨在初步了解患病中华绒螯蟹主要病灶组织病理变化，丰富该病流行病学研究，为中华绒螯蟹螺原体病临床诊断提供一定的理论参考，揭示天津地区养殖中华绒螯蟹可能面临新的疫情，该疫病的出现将严重制约中华绒螯蟹养殖业的发展，需引起相关从业人员的高度重视。

致 谢

本研究受天津市农业发展服务中心青年科技创新项目(ZXKJ201926)、天津市“131”创新型人才培养工程第一层次人选资助项目共同资助。

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国农业农村部. 中华人民共和国农业农村部公告第 573 号[EB/OL]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/xmsyj/202206/t20220629_6403635.htm, 2022-06-29.
- [2] 王文. 虾蟹新型病原螺原体的发现和研究[J]. 南京师范大学学报(自然科学版), 2016, 39(1): 1-13. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-4616.2016.01.001>
- [3] Ding, Z.F., Wang, W., Ren, Y.L., et al. (2005) A Novel Spiroplasma Pathogen Causing Systemic Infection in the Crayfish *Procambarus clarkii* (Crustacea: Decapod), in China. *FEMS Microbiology Letters*, **249**, 131-137. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.06.005>
- [4] Nunan, L.M., Lightner, D.V., Oduori, M.A., et al. (2005) *Spiroplasma penaei* sp nov. Associated with Mortalities in *Penaeus vannamei*, Pacific White Shrimp. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **55**, 2317-2322. <https://doi.org/10.1099/ijss.0.63555-0>
- [5] Liang, T.M., Li, X.L., Du, J., et al. (2011) Identification and Isolation of a Spiroplasma Pathogen from Diseased Freshwater Prawns, *Macrobrachium rosenbergii*, in China: A New Freshwater Crustacean Host. *Aquaculture*, **318**, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.03.018>
- [6] Xiu, Y.J., Wu, T., Meng, X.H., et al. (2015) Identification and Isolation of a Spiroplasma Pathogen from Diseased Oriental River Prawn, *Macrobrachium nipponense*, in China: A New Freshwater Crustacean Host. *Aquaculture*, **437**, 270-274. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.12.010>
- [7] Cole, R.M., Tully, J.G., Popkin, T.J., et al. (1973) Morphology, Ultrastructure, and Bacteriophage Infection of the Helical Mycoplasma-Like Organism (*Spiroplasma citri* gen. nov., sp. nov.) Cultured from “Stubborn” Disease of Citrus. *Journal of Bacteriology*, **115**, 367-384. <https://doi.org/10.1128/jb.115.1.367-386.1973>
- [8] Weisburg, W.G., Tully, J.G., Rose, D.L., et al. (1989) A Phylogenetic Analysis of the Mycoplasmas: Basis for Their Classification. *Journal of Bacteriology*, **171**, 6455-6467. <https://doi.org/10.1128/jb.171.12.6455-6467.1989>
- [9] 方敏, 宋林生, 崔朝霞. 中华绒螯蟹颤抖病研究进展[J]. 海洋科学, 2005, 29(1): 64-66. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-3096.2005.01.013>
- [10] Wen, W., Wen, B., Gasparich, G.E., et al. (2004) A Spiroplasma Associated with Tremor Disease in the Chinese Mitten Crab (*Eriocheir sinensis*). *Microbiology*, **150**, 3035-3040. <https://doi.org/10.1099/mic.0.26664-0>
- [11] Regassa, L.B. and Gasparich, G.E. (2006) Spiroplasmas: Evolutionary Relationships and Biodiversity. *Frontiers in Bioscience—Landmark*, **11**, 2983-3002. <https://doi.org/10.2741/2027>
- [12] 顾志峰, 王文, 杜开和, 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): 78-83+97-99. <https://doi.org/10.18307/2000.0411>
- [13] 连林坤. 虾蟹螺原体病免疫组化和病理学比较研究[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京师范大学, 2011.
- [14] Lane, D.J. (1991) 16S/23S rRNA Sequencing. In: Stackebrandt, E. and Goodfellow, M., Eds., *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*, Wiley, Chichester, 115-175.
- [15] 唐玲, 刘平, 黄瑛, 等. 酵母的分子生物学鉴定[J]. 生物技术通报, 2008(5): 84-87.
- [16] 全国水产标准化技术委员会. 中华绒螯蟹螺原体 PCR 检测方法: SC/T 7220-2015[S]. 北京: 中国农业出版社, 2015.

- [17] 刘群, 孙妍, 王菁, 等. 患“牛奶病”中华绒螯蟹主要组织病理观察[J]. 水产研究, 2022(2): 48-54.
<http://doi.org/10.12677/ojfr.2022.92006>
- [18] 刘群, 王菁, 刘桐山, 等. 锦鲤昏睡病(KSD)的实验室诊断分析[J]. 科学养鱼, 2021(5-6): 50-53.
<http://doi.org/10.3969/j.issn.1004-843X.2021.05.026>
- [19] 王文, 徐在宽. 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, 2011, 8(4): 32-35.
<http://doi.org/10.3321/j.issn:1005-8737.2001.04.008>
- [20] 毕可然, 顾伟, 王文, 等. 基于 16S rRNA 和 16S-23S rRNA 基因间隔区序列探讨陆生和水生螺原体菌株的系统发生关系[J]. 南京师大学报: 自然科学版, 2011, 34(1): 96-101. <http://doi.org/10.3969/j.issn.1001-4616.2011.01.020>
- [21] Wang, W., Gu, W., Gasparich, G.E., et al. (2011) *Spiroplasma eriocheiris* sp. nov., Associated with Mortality in the Chinese Mitten Crab, *Eriocheir sinensis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **61**, 703-708. <https://doi.org/10.1099/ijss.0.020529-0>
- [22] Bi, K., Huang, H., Gu, W., et al. (2008) Phylogenetic Analysis of Spiroplasmas from Three Freshwater Crustaceans (*Eriocheir sinensis*, *Procambarus clarkia* and *Penaeus vannamei*) in China. *Journal of Invertebrate Pathology*, **99**, 57-65. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2008.06.008>
- [23] Wang, W., Chen, J., Du, K., et al. (2004) Morphology of Spiroplasmas in the Chinese Mitten Crab *Eriocheir sinensis* Associated with Tremor Disease. *Research in Microbiology*, **155**, 630-635.
<https://doi.org/10.1016/j.resmic.2004.04.010>
- [24] 姚伟. 中华绒螯蟹螺原体侵染两种靶细胞模型的建立及互作相关蛋白的初步筛选[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京师范大学, 2013.
- [25] 刘玉涵. 中华绒螯蟹转铁蛋白在螺原体致病过程中的功能研究[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京师范大学, 2018.
- [26] Hou, L.B., Zhou, H.F., Wan, H., et al. (2020) TMT-Based Quantitative Proteomic Analysis of *Eriocheir sinensis* Hemocytes and Thoracic Ganglion during *Spiroplasma eriocheiris* Infection. *Fish & Shellfish Immunology*, **96**, 126-137.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.11.009>
- [27] Keller, R. (1992) Crustacean Neuropeptides: Structures, Functions and Comparative Aspects. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **48**, 439-448. <https://doi.org/10.1007/BF01928162>
- [28] 张爱萍. 虾蟹类眼柄激素的生理生化及基因克隆研究进展[J]. 水产学杂志, 2001, 14(1): 11-20.
<http://doi.org/10.3969/j.issn.1005-3832.2001.01.005>
- [29] 陈康轩, 李诗豪, 李富花. 凡纳滨对虾“眼柄 - 促雄性腺 - 精巢”内分泌轴调控精巢发育的分子机制研究[J]. 海洋科学, 2021, 45(11): 62-72.
- [30] 方敏, 金卫中, 宋林生, 等. 中华绒螯蟹颤抖病组织病理学研究[J]. 海洋与湖沼, 2003, 34(3): 322-328.