

W SSV 对锯缘青蟹的致病性及血清酶指标影响

刘 问^{1,2} 钱 冬² 潘清清³ 严小军¹

(1. 宁波大学生命科学与生物工程学院, 宁波 315211; 2. 浙江省淡水水产研究所鱼病研究室, 湖州 313001;

3. 浙江省三门县海洋与渔业局, 三门 317100)

摘要: 锯缘青蟹 (*Scylla serrata*) 俗称青蟹, 是我国重要的海水养殖蟹类。近年来, 浙江、福建、广东等青蟹主要养殖地区出现了严重的青蟹病害。对浙江省养殖青蟹的发病原因和流行病学调查发现, 白斑综合征病毒 (White spot syndrome virus, W SSV) 与青蟹发病存在较大相关性。为进一步研究 W SSV 对青蟹的致病性和发病机理, 作者采用白斑综合征病毒的除菌过滤液, 以 1:10—1:10000 稀释度注射感染青蟹, 结果表明 1:10—1:100 感染组的青蟹死亡率达 100%, 1:1000 感染组死亡率为 66.7%, 1:10000 感染组死亡率为 38.9%。根据攻毒悬液的病毒浓度计算出 W SSV 对青蟹的 LD_{50} 为 1.19×10^6 拷贝/只 (7.93×10^3 拷贝/g 组织); 取 W SSV 感染青蟹血淋巴进行 PCR 检测, 攻毒死亡青蟹的 W SSV 检出率为 100%, 表明 W SSV 对青蟹有很强的致病力。分析病毒感染濒死蟹的血清酚氧化酶 (PO)、过氧化物酶 (POD)、超氧化物歧化酶 (SOD)、碱性磷酸酶 (ALP)、谷丙转氨酶 (GPT)、谷草转氨酶 (GOT) 等主要酶指标, 发现病毒感染青蟹的 PO、POD 和 SOD 活力明显低于对照组, 而 ALP、GPT 和 GOT 的活力则明显高于对照组; 用 W SSV 单克隆抗体对感染蟹进行免疫组化分析, 发现 W SSV 主要侵染青蟹的鳃、甲壳下表皮、心脏、肠、胃等组织的上皮细胞, 尤其以鳃上皮细胞损害最为严重。

关键词: 锯缘青蟹; 白斑综合征病毒; 致病性; 酶指标

中图分类号: S945.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2009)06-1112-06

锯缘青蟹 (*Scylla serrata*) 俗称青蟹, 属节肢动物门、甲壳纲、十足目、梭子蟹科、青蟹属, 主要分布于我国东南沿海及日本、印度、澳大利亚、南非等海域。我国锯缘青蟹人工养殖始于 20 世纪 80 年代中后期, 2005 年我国青蟹总产量达 10.85 万吨, 占海水养殖蟹类产量的 58%, 是我国重要的海水养殖蟹类。近几年, 浙江、福建、广东等沿海主要养殖地区出现了持续的养殖青蟹病害。已经报道的重要青蟹疾病有黄水病、褐斑病、白芒病、黄斑病、纤毛虫病、弧菌病等^[1,2]。据水生动物病害测报资料, 2006 年全国青蟹平均发病率约 13.77%, 平均死亡率为 5.43%, 经济损失 2.29 亿元。近年来引起青蟹大规模死亡的主要疾病和病原尚未见明确报道。

作者在开展浙江省青蟹发病情况调查时发现, 发病青蟹的白斑综合征病毒 (White spot syndrome virus, W SSV) 检出率为 29%, 提示 W SSV 与青蟹发病存在很大的相关性。为进一步了解 W SSV 与青蟹发病的关系, 作者通过青蟹人工感染试验研究了 W SSV 对青蟹

的致病性, 并测定了青蟹感染 W SSV 后主要血清酶指标变化和病毒分布情况, 现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 健康锯缘青蟹购自浙江省三门县青蟹市场, 平均规格为 (150 ± 10) g/只, 暂养于 $48 \text{ cm} \times 37 \text{ cm} \times 29 \text{ cm}$ 塑料箱中, 水温 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, 人工海水盐度为 18。

1.2 主要试剂 超氧化物歧化酶 (SOD)、谷丙转氨酶 (GPT)、谷草转氨酶 (GOT) 测定试剂盒为南京建成生物工程研究所产品; 3,4-二羟苯丙氨酸 (L-DOPA) 为 Sigma 公司产品; Tag 酶、dNTP 为 Promega 公司产品; 100bp DNA ladder 为 Takara 公司产品; W SSV 单克隆抗体 1E9 由本实验室制备^[3]; 含 W SSV 基因片段质粒由本实验室构建, 插入片段为 OIE 白斑综合征病毒 PCR 操作规程的 941bp 产物; 羊抗鼠 IgG-HRP、AEC 染色试剂盒为华美生物工程公司产品。

收稿日期: 2009-05-18 修订日期: 2009-08-12

基金项目: 浙江省重大科技攻关项目 (2006C12038) 资助

作者简介: 刘问 (1978—), 女, 浙江金华人; 博士研究生; 主要从事水产动物病害研究。E-mail: zjwy-lw@163.com

通讯作者: 严小军, E-mail: xiaojunyan@hotmail.com

1.3 病毒悬液制备 白斑综合征病毒采自患典型白斑综合征(WSD)斑节对虾(*Penaeus monodon*),取病虾鳃、肝胰腺、甲壳下表皮等组织,用PBS按1:10体积比匀浆,4℃ 8000 r/min离心,上清经0.45 μm滤膜过滤后,注射健康克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)复壮病毒。收集濒死螯虾血淋巴,PCR检测为WSSV阳性后,0.45 μm滤膜过滤后作为青蟹攻毒用病毒悬液。同时病毒悬液按OE方法提取DNA,以已知拷贝数的含WSSV基因片段的质粒为标准品,10倍系列稀释后进行PCR测定,标定出攻毒用悬液的病毒拷贝数。

1.4 WSSV感染实验 WSSV病毒悬液分别以1:1Q 1:10Q 1:100Q 1:1000Q 1:10000稀释度注射健康青蟹,对照组注射1:10灭活病毒悬液,注射方法为:青蟹附肢关节处用碘伏消毒后,用灭菌注射器注射0.2 mL病毒悬液,每个感染组注射18只青蟹。记录各组每天死亡数。

1.5 WSSV的PCR检测 取濒死青蟹,抽取血淋巴,参照OE^[4]中WSSV的PCR方法进行WSSV的检测。

1.6 感染青蟹血清酶指标的测定 抽取濒死青蟹血淋巴,4℃ 8000 r/min离心5 min,收集血清,用于测定碱性磷酸酶(ALP)、超氧化物歧化酶(SOD)、酚氧化酶(PO)、过氧化物酶(POD)、谷丙转氨酶(GPT)及谷草转氨酶(GOT)等主要酶指标。GPT、GOT及SOD测定参照试剂盒说明书。PO测定参照

Ashida^[5]方法。POD采用改进的史成银^[6]方法。ALP测定参考Beman^[7]方法。

1.7 感染青蟹的WSSV病毒分布和组织病理 取濒死青蟹鳃、甲壳下表皮、心脏、肝胰腺、肌肉、胃、肠等组织,用10%福尔马林固定后制备石蜡切片,切片经烤片、透明、梯度酒精处理后,用3% H₂O₂处理灭活内源酶,10%羊血清37℃封闭1h后,经PBS漂洗3次;加入1:100的WSSV单抗1E9 37℃湿盒孵育1h,同上漂洗;羊抗鼠IgG-HRP 37℃湿盒孵育1h,同上漂洗;再经AEC避光显色,蒸馏水洗中止反应,在显微镜下用40倍物镜观察WSSV在青蟹组织中的分布。

2 结 果

2.1 感染死亡率

采用1:1Q 1:10Q 1:100Q 1:1000Q 1:10000的感染剂量注射感染健康青蟹,统计累积死亡数及死亡率(表1),1:1Q 1:100感染组的死亡率达100%,死亡高峰出现在4—5d 1:1000感染组的10d死亡率为66.7%,1:10000感染组10d死亡率为38.9%。按Muench-Reed^[8]法计算出WSSV对青蟹的LD₅₀,按PCR结果得知感染用病毒悬液浓度为2.37×10¹⁰拷贝/mL,则WSSV对青蟹的LD₅₀为1.19×10⁶拷贝/只,或7.93×10³拷贝/g组织。

表 1 WSSV感染锯缘青蟹的累积死亡数
Tab.1 Accumulated mortality of mud crab challenged with WSSV

实验组 Groups	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d	8d	9d	10d	死亡率 Mortality (%)
1:10	0	0	3	5	17	18	18	18	18	18	100
1:100	0	1	4	4	14	18	18	18	18	18	100
1:1000	0	0	1	3	6	8	12	12	12	12	66.7
1:10000	0	0	1	2	4	6	7	7	7	7	38.9
对照 Control	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	11

2.2 感染青蟹的WSSV检测

取感染WSSV濒死青蟹的血淋巴,用OE内套式引物检测WSSV。阳性样品的PCR产物中可见941bp特异性条带(图1)。由表2可见,WSSV感染后发病死亡的青蟹,病毒检出率为100%;但感染组存活青蟹,1:1000感染组大部分为阳性,而1:10000感染组WSSV检出率低于50%。

2.3 WSSV感染青蟹的主要血清酶指标

抽取WSSV感染濒死青蟹血淋巴,测定血清免疫相关酶、转氨酶、碱性磷酸酶等主要酶指标(表

3),结果表明:WSSV感染青蟹后,主要血清酶指标发生显著变化,其中与青蟹免疫相关的酚氧化酶(PO)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)活力明显低于对照组,感染蟹的血清总蛋白量也明显下降;同时青蟹感染WSSV后血清碱性磷酸酶(ALP)、谷丙转氨酶(GPT)、谷草转氨酶(GOT)活力均明显高于对照组。可见WSSV感染青蟹后,青蟹的免疫力显著下降,血清总蛋白也同时下降。另外,病毒感染造成了组织和脏器的病变和损坏,使碱性磷酸酶、转氨酶等释放到血清中。

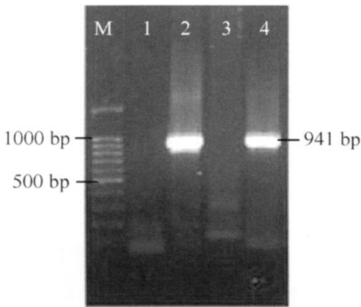


图1 PCR 检测 WSSV

Fig. 1 Detection of WSSV by PCR

M: 100bp ladder marker; 1: 阴性样品; 2: 阳性样品; 3: 阴性对照; 4: 阳性对照
M: 100bp ladder marker; 1: negative sample; 2: positive sample; 3: negative control; 4: positive control

表 2 感染青蟹的 WSSV 检出率
Tab. 2 WSSV positive rate of mud crab by PCR (%)

实验组 Groups	死亡蟹 Dead crabs		存活蟹 Survival crabs	
	鳃	血淋巴	鳃	血淋巴
1: 10	18/18	18/18	0/0	0/0
1: 100	18/18	18/18	0/0	0/0
1: 1000	12/12	12/12	5/6	4/6
1: 10000	7/7	7/7	6/11	4/11
对照 Control	0/2	0/2	0/16	0/16

表 3 WSSV 感染青蟹血清主要酶指标
Tab. 3 Enzymes activities in hemolymph of moribund crab infected with WSSV

组别 Groups	PO(U)	SOD(U)	POD(U)	ALP(U)	GPT(U)	GOT(U)	蛋白含量 Protein concentration (mg/mL)
感染组 Infection	8.02 ± 2.76	1154.3 ± 125.3	0.06 ± 0.02	0.93 ± 0.15	159.7 ± 23.6	59.53 ± 16.03	31.94 ± 4.32
对照组 Control	50.06 ± 7.5	1203.6 ± 88.1	0.28 ± 0.03	0.34 ± 0.04	48.92 ± 5.4	43.04 ± 3.95	71.78 ± 7.75

注: 感染组濒死蟹 11 只, 对照组健康蟹 5 只; 表中数据为 X ± SD
Note: Data represent mean value (X ± SD) of 11 mud crabs in infection group and 5 mud crabs in control group

2.4 感染 WSSV 青蟹的免疫组化分析

用抗 WSSV 单抗免疫组化法分析 WSSV 感染青蟹各部位的病毒分布, 发现 WSSV 感染后青蟹的鳃、甲壳下表皮、心脏、胃、肠等组织均不同程度地受到病毒感染 (图 2), 以鳃上皮细胞感染最为严重, 其次为甲壳下表皮、心脏、肠、胃等组织的上皮细胞, 而在肌肉、肝胰腺中则不明显; WSSV 主要存在于细胞核中, 细胞核部分因 AEC 显色而表现为明显的红色, 细胞质中无 WSSV, 不显色; 对照组青蟹的组织未显色, 表明不存在 WSSV 感染。

3 讨论

3.1 WSSV 对青蟹的致病性

白斑综合征是危害全球对虾等甲壳类动物最严重的疾病^[9-11], 自 20 世纪 90 年代以来给全世界的对虾养殖业造成了巨大的经济损失^[12]。研究发现, 白斑综合征病毒宿主广泛, 除感染对虾外, 可感染大部分海水虾蟹等甲壳类动物^[13-15]。台湾学者 Chen L L, et al.^[16]曾发现锯缘青蟹存在 WSSV 的感染, 但关于 WSSV 对青蟹的致病力和致病过程, 目前未见文献报道。

作者在对 2006—2007 年浙江发病青蟹进行

WSSV 检测时发现, 发病青蟹的 WSSV 检出率为 29%, 而且病毒检出高峰与青蟹发病高峰存在明显的相关性。为进一步研究 WSSV 对青蟹的致病性, 作者采用斑节对虾的 WSSV 毒株, 进行了青蟹人工感染试验, 结果表明: WSSV 对青蟹的 LD₅₀ 为 7.93 × 10³ 病毒拷贝 /g 组织, 表明 WSSV 对青蟹存在很强的致病性。病毒感染青蟹可在 3—10d 内死亡, 且死亡发生较为迅速, 部分病毒感染青蟹还出现断肢、吐泡等现象; 死亡青蟹体表未发现明显的白斑症状, 解剖可发现感染蟹出现鳃丝肿胀、血淋巴呈黄色且不凝固等现象, 与秋季青蟹发病症状相似; PCR 检测感染濒死青蟹的鳃和血淋巴, WSSV 阳性率为 100%, 而对对照组的死亡蟹未检出病毒。这些结果表明 WSSV 对青蟹存在很强的致病力, 是青蟹的重要病原。

3.2 WSSV 对青蟹血清主要酶指标的影响及病毒分布

研究 WSSV 感染青蟹后血清主要酶指标的变化情况, 发现濒死青蟹血清的免疫相关酶指标出现显著下降, 按下降的幅度依次为: 酚氧化酶 (PO) (比对照组下降了 84%)、过氧化物酶 (POD) (下降 78.6%)、超氧化物歧化酶 (SOD) (下降

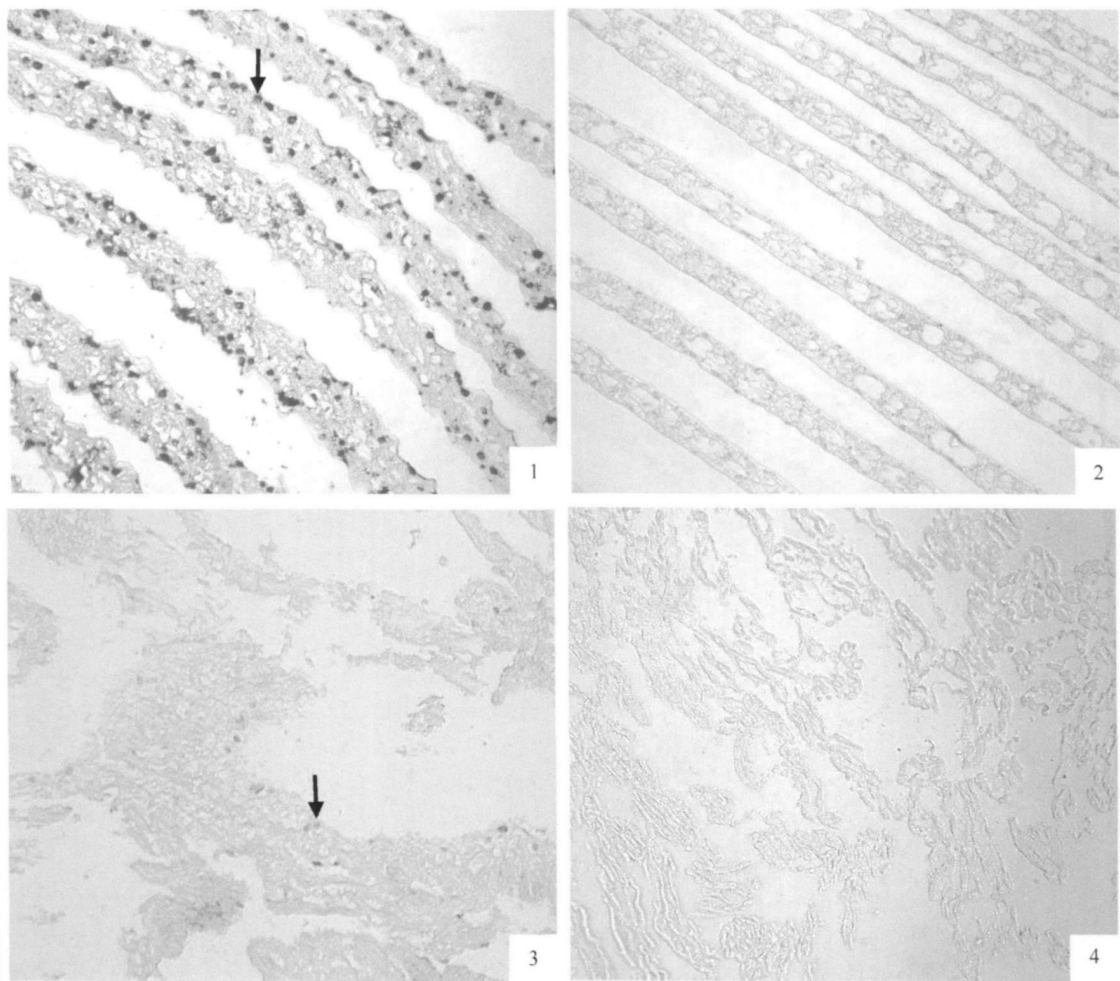


图 2 人工感染青蟹鳃和心脏的 WSSV 免疫组化

Fig. 2 Immunohistochemical staining of gill and heart from WSSV-infected mud crab

1. 感染蟹的鳃(红色斑点示被 WSSV 感染上皮细胞的细胞核); 2. 健康蟹的鳃; 3. 感染蟹的心脏; 4. 健康蟹的心脏

1. gills of WSSV infected crab (red spots showing nucleolus of epithelium infected by WSSV); 2. gills of healthy crab; 3. heart of WSSV infected crab; 4. heart of healthy crab

3. 82%); 此外, 濒死蟹还出现血清转氨酶和碱性磷酸酶 (ALP) 活力大幅升高的现象, 最为明显的是谷丙转氨酶 (GPT) 和 ALP, 分别比对照组升高了 226. 6% 和 173. 3%, 谷草转氨酶 (GOT) 也升高了 38. 3%。ALP 的升高与甲壳动物发病的关系, 已在中国对虾中有报道^[17]; 转氨酶在人类临床中作为反映肝等组织损伤程度的重要指标, 肝损伤或坏死时肝细胞内转氨酶进入血液系统, 引起血清酶活力升高, 青蟹转氨酶的升高反映了 WSSV 感染对青蟹器官的损伤。以上结果表明: WSSV 感染青蟹后, 可破坏青蟹的免疫机能, 导致青蟹免疫指标迅速下降, 同时病毒还可损伤实质性器官, 造成青蟹机体功能严重受损, 最终导致青蟹死亡。免疫组化分析结果表明 WSSV 主要侵染青蟹的鳃、甲壳下表皮、心脏、肠、胃等组织的上皮细胞, 尤其是鳃上皮细胞损害最为严重, 这一点与 WSSV 感染对虾较为相似。WSSV

在青蟹血淋巴细胞中的侵袭和分布情况, 目前尚在研究中。

3.3 WSSV 与浙江青蟹发病的关系

WSSV 作为水产养殖甲壳类的主要病原, 目前已对其宿主范围有了较为全面的了解, 大部分虾、蟹类都是 WSSV 的宿主^[15]。但这些宿主哪些是病毒的敏感宿主 (acute carrier) 或可能宿主 (potential carrier), 目前未见系统的分析比较。作者研究表明 WSSV 对青蟹的 LD₅₀ 为 7.93×10^3 病毒拷贝 /g 组织, 表明 WSSV 对青蟹存在很强的致病性, 从病毒毒力上确定了 WSSV 对青蟹致病力。通过对自然发病青蟹的病毒检测, 表明 WSSV 在青蟹发病高峰期存在较高的检出率, 而且青蟹发病与同池混养的脊尾白虾 (*Palaeomon carinicauda*) 及周边养殖的南美白对虾发病存在明显的相关性 (另文报道), 这些研究表明, WSSV 是近年来浙江省青蟹发病的主要病原。

本研究为青蟹病害的病原、以及青蟹病害防控体系的建立提供了重要的依据。对青蟹养殖池中 WSSV 的病毒来源、传播宿主和传播途径等研究,还有待于进一步的跟踪和分析。

参考文献:

- [1] Xu H S, Shu M A, Shao Q J *et al*. Common diseases in *Scylla serrata* (Forsk.) and technique for prevention and treatment [J]. *Fisheries Science*, 2000, **19**(5): 24—26 [徐海圣, 舒妙安, 邵庆均, 等. 锯缘青蟹常见病害及其防治技术. 水产科学, 2000, **19**(5): 24—26]
- [2] Wang R Z, Zheng J X, Wang S H. Research progress of *Scylla serrata* diseases [J]. *Journal of Wuhan Polytechnic University*, 2008, **27**(3): 27—30 [王荣智, 郑嘉熙, 汪世华. 锯缘青蟹疾病研究进展. 武汉工业学院学报, 2008, **27**(3): 27—30]
- [3] Liu W, Qian D, Yan X J. Production and BA-ELISA application of monoclonal antibodies to white spot syndrome virus [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2009, **24**(Suppl): 49—52 [刘问, 钱冬, 严小军. 白斑综合征病毒 (WSSV) 单克隆抗体的制备及 BA-ELISA 方法的建立. 大连水产学报, 2009, **24**(增刊): 49—52]
- [4] OE diagnostic manual for aquatic animal diseases (3rd edition) [M]. Office International des Epizooties Paris France 2003
- [5] Ashida M. Purification and characterization of pre-phospholipase from hemolymph of the silkworm *Bombyx mori* [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1971, **144**: 749—762
- [6] Shi C Y, Huang J, Song X L. ELISA quick testing for monoclonal antibodies of hypodermal and hematopoietic necrosis baculovirus of shrimp [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 1999, **6**(3): 116—118 [史成银, 黄健, 宋晓玲. 对虾皮下及造血组织坏死杆状病毒单克隆抗体的 ELISA 快速检测. 中国水产科学, 1999, **6**(3): 116—118]
- [7] Beman T. Alkaline phosphatase and phosphorus availability in Lake Kinneret [J]. *Limnology Oceanography*, 1970, **15**: 663—674
- [8] Reed L J, Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints [J]. *The American Journal of Hygiene*, 1938, **27**: 493—497
- [9] Chou H Y, Huang C Y, Wang C H, *et al*. Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan [J]. *Dis Aquat Org*, 1995, **23**: 165—173
- [10] Xie Z X, Xie L J, Pang Y S *et al*. Development of a multiplex real-time PCR assay for detection of WSSV and HHNV [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2009, **33**(1): 29—34 [谢芝勋, 谢丽基, 庞耀珊, 等. WSSV 和 HHNV 二重实时荧光 PCR 检测方法的建立. 水生生物学报, 2009, **33**(1): 29—34]
- [11] Lightner D V. A handbook of pathology and diagnostic procedures for diseases of cultured penaeid shrimp [M]. *World Aquaculture Society*, Baton Rouge LA, USA, 1996
- [12] Lightner D V. The penaeid shrimp viruses TSV, HHNV, WSSV and YHV: current status in the Americas available diagnostic methods and management strategies [J]. *Journal of Applied Aquaculture*, 1999, **9**: 27—52
- [13] Lightner D V, Hasson K W, White B L, *et al*. Experimental of white spot syndrome of Western Hemisphere penaeid shrimp with Asian white spot syndrome virus and Asian yellow head virus [J]. *JAquat Anim Health*, 1998, **10**: 271—281
- [14] Wang Y C, Lo C F, Chang P S, *et al*. Experimental infection of white spot baculovirus in some cultured and wild decapods in Taiwan [J]. *Aquaculture*, 1998, **164**: 221—231
- [15] Yan D C. Review on shrimp white spot syndrome virus (WSSV) hosts [J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2007, **1**: 136—140 [闫冬春. 对虾白斑征病毒 (WSSV) 宿主研究进展. 海洋湖沼通报, 2007, **1**: 136—140]
- [16] Chen L L, Lo C F, Chiu Y L, *et al*. Natural and experimental infection of white spot syndrome virus (WSSV) in benthic larvae of mud crab *Scylla serrata* [J]. *Dis Aquat Org*, 2000, **40**: 157—161
- [17] Wu Y, Xing D L, Zhu G Q, *et al*. Hemopathologic of a baculovirus-caused epidemic disease of *Penaeus chinensis* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 1998, **5**(3): 53—57 [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. 中国水产科学, 1998, **5**(3): 53—57]

STUDIES ON PATHOGENICITY OF WHITE SPOT SYNDROM VIRUS AND EFFECT ON HEMOLYMPH ENZYMES ACTIVITIES CHANGES IN MUD CRAB *SCYLLA SERRATA* (FORSKAL)

LIU Wen^{1, 2}, QIAN Dong², PAN Qing-Qing³ and YAN Xiao-Jun¹

(1 Faculty of Life Science and Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2 Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou 313001, China;

3 Sammen Bureau of Ocean and Fisheries, Sammen 317100, China)

Abstract Mud crab *Scylla serrata* (Forsk.) is main economically cultivated marine crab in China with production of 108 500 tons, 88.14% of the total production of the world. The main mud crab region distributed along the coastline of Southeast China including Zhejiang, Fujian, Guangdong, Guangxi and Hainan Province. Recently, serious diseases occurred in main mud crab culture region with morbidity of 13.77% in cultivated mud crab in 2006 in whole China resulting in 32.71 million dollars lost. White spot syndrome virus (WSSV), the most pathogen of shrimp culture in China was considered an important pathogen in cultivated mud crab. It showed that WSSV detection with PCR was closely relative with occurring of mud crabs diseases during the epidemics investigations from 2006 to 2007. To further study the pathogenicity of WSSV to mud crab, WSSV bacteria-free suspension collected from typical WSSV infected black tiger shrimp (*Penaeus monodon*), was used for challenging to healthy mud crab by intramuscular injection at 10-folded dilutions ranged from 1:10 to 1:10000. The results showed that the cumulative mortalities for dilutions of 1:10 to 1:100, 1:1000, 1:10000 were 100%, 66.7% and 38.9% respectively. The LD₅₀ of WSSV to mud crab was calculated as 1.19×10^6 copies/crab or 7.93×10^3 copies/g of crab weight by Muench-Reed methods. Gills and hemolymph of moribund mud crabs challenged with WSSV were positive by PCR. These results indicated that WSSV was highly virulent to mud crab. The activities of main hemolymph enzymes including phenoloxidase (PO), peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD), alkaline phosphatase (ALP), glutamate-pyruvate transaminase (GPT) and glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT) of mud crab were analyzed. WSSV infected moribund crabs showed significantly descent in activities of PO, POD and SOD, while ascent in ALP, GPT and GOT compared with the control group. WSSV mainly distributed in epithelia of gills, cuticular of skeletal plate, heart, intestine and stomach by immunohistochemistry with Mabs against WSSV, and gill epithelia showed heavily damaged with the main distribution of WSSV in nucleic. It can be concluded that WSSV was a main pathogen of mud crab with high pathogenicity.

Key words *Scylla serrata*; WSSV; Pathogenicity; Enzyme activity