

三疣梭子蟹“黄选 1 号”盐度耐受性分析

隋延鸣^{1,2} 高保全¹ 刘萍^{1*} 任宪云^{1,2} 李洋^{1,3} 丁金强^{1,2} 段亚飞^{1,2}

(¹农业部海洋渔业可持续发展重点实验室,中国水产科学研究院黄海水产研究所,青岛 266071)

(²上海海洋大学水产与生命学院,201306)

(³大连海洋大学,116023)

摘 要 通过盐度突变和渐变两种方法测定了三疣梭子蟹“黄选 1 号”的盐度耐受性。盐度突变条件下,Ⅱ期幼蟹 24、48、72h 低盐半致死浓度分别为 21.655、22.109、23.184;高盐半致死浓度分别为 50.711、50.061、49.612。80 日龄成蟹 24、48、72h 低盐半致死浓度分别为 5.13、7.49、8.56;高盐半致死浓度分别为 54.49、52.74、52.21。在逐渐降低盐度条件下,Ⅱ期幼蟹可在盐度 6.7 的海水中存活,而 80 日龄成蟹可在盐度为 5.7 的海水中存活;随着盐度逐渐升高,Ⅱ期幼蟹和 80 日零成蟹均可在盐度 47.7 的海水中存活。三疣梭子蟹“黄选 1 号”具有较宽的盐度耐受范围。

关键词 黄选 1 号 三疣梭子蟹 盐度耐受性 LD₅₀

中图分类号 S966.1 **文献识别码** A **文章编号** 1000-7075(2012)02-0063-06

Preliminary studies on the salinity tolerance of “Huangxuan No. 1” *Portunus trituberculatus*

SUI Yan-ming^{1,2} GAO Bao-quan¹ LIU Ping^{1*} REN Xian-yun^{1,2}

LI Yang^{1,3} DING Jin-qiang^{1,2} DUAN Ya-fei^{1,2}

(¹Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

(²College of Life Science and Technology, Shanghai Ocean University, 20136)

(³Dalian Ocean University, 116023)

ABSTRACT The salinity tolerance of “Huangxuan No. 1” *Portunus trituberculatus* was investigated in controlled temporary water by including sudden and gradual changes in salinity. The results showed that the LD₅₀ values of crab larvae at Stage II for 24h, 48h, 72h tolerance to low-salinity were 21.655, 22.109, 23.184, respectively, and for tolerance to high-salinity were 50.711, 50.061, 49.612 respectively. The LD₅₀ values of 80-day crabs for 24, 48, 72h tolerance to low-salinity were 5.13, 7.49, 8.56, respectively, and for tolerance to high-salinity were 54.49, 52.74, 52.21 respectively. Crab larvae at Stage II can survive in 6.7 low-salinity water by grad-

国家高技术研究发展计划项目(2012AA10A409)、农业科技成果转化资金项目(2010GB23260589)和山东省科技发展计划项目(2011GHY11526)共同资助

收稿日期:2011-01-24;接受日期:2011-10-18

* 通讯作者。E-mail:liuping@ysfri.ac.cn, Tel:(0532)85836605

作者简介:隋延鸣(1985-),男,硕士研究生,主要从事海水养殖生物种质资源与遗传育种研究。E-mail:suiyanming123456@126.com,

Tel:13730947026

ual salinity decrease, and can survive in 47.7 high-salinity water by gradual salinity increase. While 80-day crabs can survive in 5.7 low-salinity water by gradual salinity decrease, and can survive in 47.7 high-salinity water by gradual salinity increase. Therefore, "Huangxuan No. 1" *P. trituberculatus* has a strong salinity tolerability.

KEY WORDS Huangxuan No. 1 *Portunus trituberculatus* Salinity tolerance LD₅₀

三疣梭子蟹 *Portunus trituberculatus* 是我国重要的渔业资源, 隶属甲壳纲 Crustacea、十足目 Decapoda、梭子蟹科 Portunidae、梭子蟹属 *Portunus*, 主要分布于中国、朝鲜、日本等海域(戴爱云等 1977、1988), 因其食用价值高、生长快, 1981 年以来已被列为我国海洋水产养殖对象(孙颖民等 1984)。近年来, 随着梭子蟹养殖规模的不断扩大, 各种病害也开始接踵而至, 并呈现大规模发生和爆发性流行的趋势, 给产业和区域经济的发展造成重大损失。中国水产科学研究院黄海水产研究所采取群体选育与家系选育, 经过 3 年的工作, 2008 年建立了 1 个具有明显生长优势的三疣梭子蟹新品系“黄选 1 号”, 体重增长速度提高 13.89%, 成果经专家鉴定为国际先进水平。

盐度是一种与渗透压密切相关的环境因子, 对水生生物的呼吸、代谢、生长、存活及免疫防御有着极其重要的影响(周双林等 2001)。对澳大利亚小龙虾 *Procambarus clarkii* (Mill *et al.*, 1980)、红螯螯虾 *Cherax quadricarinatus* (吴志新等 1977)、长蛸 *Octopus variabilis* (张玉玉等 2010)、黑斑口虾 *Oratosquilla kempfi* 幼体(尹飞等 2005)等水生动物的盐度耐受性研究表明, 水生动物都有一个生存盐度范围。近年来随着“黄选 1 号”三疣梭子蟹推广面积的逐渐增大, 养殖水体的盐度差异也随之增大。因此, 探索三疣梭子蟹“黄选 1 号”盐度耐受性, 对选择新的养殖区显得尤为重要。三疣梭子蟹养殖中, II 期幼蟹是由育苗车间进入室外池塘阶段, 80 日龄成蟹处于池塘水体盐度波动最大阶段, 故本实验拟以 II 期幼蟹和 80 日龄蟹为材料检测“黄选 1 号”三疣梭子蟹对盐度的耐受性。

1 材料和方法

1.1 材料

中国水产科学研究院黄海水产研究所经过 5 年的群体选育和家系选育培育的“黄选 1 号”。实验所用个体规格为 II 期幼蟹和 80 日龄蟹。实验在山东省昌邑市海丰水产公司进行。II 期幼蟹的盐度耐受性于 2011 年 3 月完成, 80 日龄蟹盐度耐受性于 2010 年 7 月完成。

1.2 II 期幼蟹盐度耐受性实验

实验在 $0.35\text{ m}^2 \times 0.8\text{ m}$ 柱形桶中加水约 60 cm 深, 通过加卤盐或淡水调配盐度。实验分渐变实验和骤变实验。渐变组设 3 个平行, 每个平行分升、降盐两个桶(30 只/桶)。渐升桶在盐度 43.7 基础上, 每 24h 升高两个盐度直至个体全部死亡。渐降组从盐度 28.7 开始, 每 24h 降低两个盐度直至个体全部死亡。骤变组设置盐度梯度 18.7、20.7、22.7、24.7、26.7、28.7、43.7、45.7、47.7、49.7、51.7 及 1 个对照(盐度 33.7 为正常海水)。每梯度两个平行, 每桶中放 30 只 II 期幼蟹。实验 24、48、72h 统计死亡个体, 不换水, 充气投喂大卤虫。

1.3 80 日龄成蟹盐度耐受性实验

实验在底面积为 8 m^2 的水泥池中加水约 40 cm 深, 通过加卤盐和淡水调配盐度。实验分渐变实验和骤变实验。渐变组设 3 个平行, 每个平行分升、降盐, 对照(盐度 33.7 为正常海水)3 个水泥池, 每组 30 个体。渐升池在盐度 43.7 基础上, 每 24h 升高两个盐度直至个体全部死亡。渐降池在盐度 13.7 基础上, 每 24h 降低两个盐度直至个体全部死亡。实验期间投喂兰蛤, 每 24h 捞出死亡个体并统计记录。骤变组设置盐度梯度 3.7、5.7、7.7、9.7、11.7、13.7、43.7、45.7、47.7、49.7、51.7、53.7、55.7 及 1 个对照(盐度 33.7 为正常海水)。每梯

度两个平行,每池中放30个个体。实验24、48、72h统计死亡个体,期间不换水,充气投喂兰蛤。

1.4 数据分析和处理

按周一平(2003)报道的方法计算半致死浓度 LD_{50} ,数据处理采用统计软件Excel 2007和SPSS 17.0。

2 结果与分析

2.1 II期幼蟹盐度骤变耐受性

盐度由33.7骤降至28.7或骤升至43.7时,对II期幼蟹存活无影响。当盐度骤降至26.7时,24h死亡率为10%,48h累计死亡率为16.7%,72h累计死亡率为23.7%;骤降至18.7时,24h死亡率为100%。当盐度骤升至45.7时,24h死亡率为6.7%,48h累计死亡率为10%,72h累计死亡率为10%;骤降至55.7时,24h死亡率为100%。数据见表1。

表1 盐度骤变下II期幼蟹死亡率

Table 1 Effect of different sudden salinities on survival rate of crab larvae at Stage II

数量 Number	盐度 Salinity	24h 死亡率	48h 死亡率	72h 死亡率
		24 h mortality(%)	48 h mortality(%)	72 h mortality(%)
30	18.7	100	100	100
30	20.7	60	66.7	80
30	22.7	20	20	50
30	24.7	10	16.7	26.7
30	26.7	10	16.7	23.7
30	28.7	0	0	0
30	33.7(对照 Control)	0	0	0
30	43.7	0	0	0
30	45.7	6.7	10	10
30	47.7	16.7	23.3	33.3
30	49.7	33	40	40
30	51.7	50	66.7	80
30	53.7	86.7	86.7	86.7
30	55.7	100	100	100

线性回归方程经卡方检测均合适,24、48、72h低盐 LD_{50} 为21.655、22.019、23.184;24、48、72h高盐 LD_{50} 为50.711、50.061、49.612。数据见表2。

表2 II期幼蟹盐度耐受性

Table 2 Tolerance of Crab larvae at Stage II to sudden salinity change

条件 Condition	时间(h) Time	线性回归方程 $y=ax+b$	相关系数 R	LD_{50}
低盐 Low-salinity	24	$y=23.181-13.815x$	0.914	21.655
	48	$y=20.671-11.833x$	0.833	22.019
	72	$y=24.913-14.596x$	0.967	23.184
高盐 High-salinity	24	$y=35.374x-55.328$	0.979	50.711
	48	$y=34.425x-53.511$	0.996	50.061
	72	$y=35.079x-54.479$	0.981	49.612

2.2 II期幼蟹盐度渐变耐受性

II期幼蟹盐度由24.7以每日两个单位逐渐降至6.7时,摄食正常,经14d观察,有蜕皮现象而无死亡;但盐度降至4.7时,幼蟹在12h内全部死亡;而盐度由43.7以每日两个单位逐渐升至47.7时,摄食正常,经14d观察,有蜕皮现象而无死亡;当盐度到达49.7时,死亡10只,剩余个体摄食、游动正常;盐度升至51.7时,累计死亡15只,剩余个体摄食正常;盐度升至53.7时,剩余4只,摄食正常;盐度升至55.7时,全部个体死亡。由此可知,通过逐渐调整盐度,“黄选1号”三疣梭子蟹II期幼蟹可以存活于盐度为6.7~47.7的水环境中。

2.3 80日龄蟹盐度骤变耐受性

盐度由33.7骤降至13.7或骤升至47.7时,对80日龄三疣梭子蟹存活无影响。盐度由33.7骤降至11.7时,80日龄三疣梭子蟹24h死亡率3%,48h累计死亡率7%;盐度骤降至5.7时,三疣梭子蟹24h死亡率40%,48h累计死亡率73%,72h全部死亡;盐度由33.7骤升至49.7时,三疣梭子蟹24h死亡率7%,之后不再死亡;盐度骤升至55.7时,在24h之内实验个体全部死亡(表3)。

表3 盐度骤变条件下80日龄三疣梭子蟹死亡率

Table 3 Effect of different sudden salinities on survival rate of 80-day crabs

数量 Number	盐度 Salinity	24h死亡率 24h mortality (%)	48h死亡率 48h mortality (%)	72h死亡率 72h mortality (%)
30	5.7	40	73	100
30	7.7	13	60	67
30	9.7	32	0	20
30	11.7	3	7	7
30	13.7	0	0	0
30	33.7(对照 Control)	0	0	0
30	43.7~47.7	0	0	0
30	49.7	7	7	7
30	51.7	23	50	53
30	53.7	33	57	63
30	55.7	100	100	100

线性回归方程经卡方检测均合适,24、48、72h低盐半致死LD₅₀为5.13、7.49、8.569;24、48、72h高盐半致死LD₅₀为54.491、52.74、52.214(表4)。

表4 80日龄三疣梭子蟹的盐度耐受性

Table 4 Tolerance of 80-day crabs to sudden salinity change

条件 Condition	时间(h) Time	线性回归方程 $y=ax+b$	相关系数R	LD ₅₀
低盐 Low-salinity	24	$y=8.7630-5.419x$	0.998	5.13
	48	$y=11.404-7.332x$	0.999	7.49
	72	$y=16.545-12.299x$	0.999	8.569
高盐 High-salinity	24	$y=40.123x-64.654$	0.999	54.491
	48	$y=48.093x-77.79$	1.000	52.74
	72	$y=61.129x-99.98$	1.000	52.214

2.4 80日龄蟹盐度渐变耐受性

80日龄成蟹盐度由13.7以每日两个单位渐降至5.7时,摄食正常,经14d观察,有蜕皮现象而无死亡;但盐度降至3.7时,个体于24h内全部死亡;盐度由43.7以每日两个单位渐升至47.7时,摄食正常,经14d观察,有蜕皮现象而无死亡;当盐度升至49.7时,死亡两只,剩余个体摄食正常且有蜕皮现象;升至51.7时,累计死亡8只,剩余个体摄食正常且有蜕皮现象;盐度升至53.7时,累计死亡12只,剩余个体摄食正常且无蜕皮现象;盐度升至55.7时,累计死亡20只,剩余个体不摄食;盐度升至57.7时,全部死亡。由此可知,通过逐渐调整盐度,80日龄成蟹可以存活于盐度为5.7~47.7的水环境中。

3 讨论

甲壳动物具适应外界盐度变化的能力,主要通过血淋巴渗透压调控来维持机体的正常生命活动,血淋巴渗透压调节主要依赖于无机离子(Na^+ - Cl^- - K^+ 等)的通透性以及自由氨基酸等渗透压效应物含量的变化(金彩霞等 2008),其中 Na^+ 和 Cl^- 是形成血淋巴渗透压的最主要贡献者,约占80%~90%左右(Morris *et al.* 2001)。甲壳动物离子调控主要通过鳃上皮细胞膜上的 Na^+ K^+ -ATPase和 HCO_3^- -ATPase等离子转运酶的作用来完成,其中 Na^+ K^+ -ATPase约占总ATPase活性的70%(Chen *et al.* 1977;Furriel *et al.* 2000)。Towle(1981)研究发现,甲壳动物鳃丝 Na^+ K^+ -ATPase在维持机体离子调节和细胞水平平衡上起主要作用,并认为 Na^+ K^+ -ATPase活力大小与渗透调节能力是显著相关。这说明 Na^+ K^+ -ATPase在甲壳动物离子调控中占主导地位,能反映甲壳动物对外界环境变化的渗透生理的适应能力。已有研究证明斑节对虾*Penaeus monodon*盐度由32骤降至8(Ferraris *et al.* 1981)、印度明对虾*Fenne roopenaeus indicus*盐度从32骤升至40(Parraris-Estepa 1981)、白滨对虾*Litopenaeus setiferus*盐度由10骤降至5时,都能生存、正常生长(Castile *et al.* 1981)。据Neufeld等(1980)报道美洲真蟹*Callinectes sapidus*从自然海水转移到盐度6.7海水中能生存、正常生长,三疣梭子蟹“黄选1号”Ⅱ期幼蟹从原生境水中(盐度33.7)骤降至盐度28.7或骤升至盐度43.7,80日龄蟹从自然水中(盐度33.7)骤降至盐度13.7或骤升至盐度43.7都能存活、蜕皮、生长,表明三疣梭子蟹“黄选1号”具有较宽的盐度骤变耐受范围,可以应付池塘养殖过程因高温和降雨引起的盐度骤变。而通过逐步淡化,Ⅱ期幼蟹可在盐度6.7的水环境中生存、生长;通过加卤盐,可以在盐度47.7的水环境中生存、生长。通过逐步淡化,80日龄蟹可在盐度5.7的水环境中生存、生长;通过加卤盐,可以在盐度47.7的水环境中生存、生长。这一现象为三疣梭子蟹“黄选1号”更广泛的推广提供了数据支持。

盐度不仅是影响甲壳动物呼吸代谢功能的重要因子,同时也是影响免疫防御的重要因子。水环境中盐度改变,渗透调节增强,需氧率增强,增加对能量的需求,尤其是盐度突变导致代谢加速,应急反应加强,会引起体内技能调节失衡,免疫能力下降(叶建生等 2008)。李才文等(2002)进行了盐度变化对日本囊对虾免疫水平的影响以及不同盐度下的人工WSSV感染实验研究。结果发现,盐度变化能够影响对虾的免疫状况,盐度升高或降低,会降低日本囊对虾*Marsupenaeusw janpoicus*的免疫水平,盐度降低能够明显引起对虾血细胞数量降低,而盐度升高则使血细胞数量增加。Le Moullac等(2000)报道圣保罗对虾*Litopenaeus vannamei*血淋巴中血细胞的数量随着盐度的降低而减少20%,抗菌活力下降。马月钗等(2010)研究了盐度变化对锯缘青蟹*Scylla serrata*免疫因子的影响。结果显示,大幅度长时间的盐度胁迫可显著影响锯缘青蟹的抗病力。三疣梭子蟹“黄选1号”经历盐度骤变,Ⅱ期幼蟹从自然海水(盐度33.7)骤降至盐度28.7或骤升至盐度43.7,80日龄蟹从自然水中(盐度33.7)骤降至盐度13.7或骤升至盐度43.7,维持72h没有出现死亡个体,说明Ⅱ期幼蟹在盐度28.7~43.7范围、80日龄蟹在盐度13.7~43.7范围内免疫水平比较稳定。

参 考 文 献

- 马月钗,杨玉娇,王国良. 2010. 盐度变化对锯缘青蟹 *Scylla serrata* 免疫因子的胁迫影响. 浙江农业学报, 24(4):479~484
- 尹 飞,王春琳,周 帅,许式见. 2005. 黑斑口虾蛄幼体不同发育阶段的温度、盐度耐受性研究. 水产科学, 24(11):4~6
- 叶建生,王兴强,马 牲,阎斌伦. 2008. 盐度突变对凡纳滨对虾非特异性免疫因子的影响. 海洋水产研究, 29(1):39~42
- 孙颖民,闫 愚,孙进杰. 1984. 三疣梭子蟹幼体发育. 水产学报, 8(3):219~226
- 李才文,管越强,俞志明. 2002. 盐度变化对日本对虾暴发白斑综合征病毒病的影响. 海洋环境科学, 21(4):6~9
- 吴志新,陈孝煊. 1997. 红螯螯虾对盐度耐受性的研究. 水利渔业, 4:20~21
- 张玉玉,王春琳,李来国. 2010. 长蛸的盐度耐受性及盐度胁迫对其血细胞和体内酶活力的影响. 台湾海峡, 29(4):452~459
- 周一平. 2003. 用 SPSS 软件计算新药的 LD50. 药学进展, 27(5):314~316
- 周双林,姜乃澄,卢建平,杨万喜. 2001. 甲壳动物渗透压调节的研究进展. 东海海洋, 19(1):44~51
- 金彩霞,潘鲁青. 2008. 盐度变化对克氏原螯虾渗透调节影响机制的初步研究. 水生生物学报, 32(6):895~899
- 戴爱云,冯钟琪,宋玉枝,黄志祥,吴赫昌. 1977. 三疣梭子蟹渔业生物资源的初步调查. 动物学杂志, (2):30~33
- 戴爱云,杨思谅,宋玉枝,陈国孝. 1986. 中国海洋蟹类. 北京:海洋出版社, 213~214
- Chen, J. C., and Chia, P. G. 1997. Osmotic and ionic concentrations of *Scylla serrata* (Forsk.) subjected to different salinity levels. J. Comp. Biochem. Physiol. 117(2 a):239~244
- Castille, F. J., and Lawrence, A. 1981. The effect of salinity on the osmotic, sodium and chloride concentrations in the hemolymph of euryaline shrimp of the genus *Penaeus*. J. Comp. Biochem. Physiol. 168(a):75~80
- Ferraris, R. P., et al. 1986. Effect of salinity on the osmotic, chloride, total protein and calcium concentration in the hemolymph of the prawn *Penaeus monodon*. J. Comp. Biochem. Physiol. 83a:701~708
- Furriel, R. P. M. 2000. Characterization of Na⁺-K⁺-ATPase in gill microsomes of the fresh water shrimp *Macrobrachium olfersii*. J. Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol. 126(3):303~315
- Le Moullac, G., and Haffner, P. 2000. Environmental factors affecting immune responses in Crustacea. Aquaculture, 191(1-3):121~131
- Mill, B. J., and Geedes, M. C. 1980. Salinity tolerance and osmoregulation of the Australian freshwater crayfish *Cherax destructor* Clark (Decapoda: Parastacidae). Aust. J. Mar. and Freshw. Res. 31(5):667~676
- Morris, S. 2001. Neuroendocrine regulation of osmoregulation and the evolution of air breathing in decapod crustaceans. J. Exp. Biol. 204(5):979~989
- Neufeld, G. J., Holliday, C. W., and Pritchard, J. B. 1980. Salinity adaptation of Gill Na⁺-K⁺-ATPase in the blue crab, *Callinectes sapidus*. J. Exp. Zool. 211(2):215~224
- Parado-Esteva, F. D. et al. 1987. Responses of intermolt *Penaeus indicus* to large fluctuations in environmental salinity. Aquaculture, 64(3):175~184
- Towle, D. W. 1981. Role of Na⁺-K⁺-ATPase in ionic regulation by marine and estuarine animals. Aquaculture, 2:107~122