

文章编号: 1000-0615(2019)08-1768-13

DOI: 10.11964/jfc.20180611338

水体盐度对雌性三疣梭子蟹生长、卵巢发育、渗透压调节、代谢和抗氧化能力的影响

龙晓文¹, 吴仁福¹, 侯文杰², 潘桂平², 成永旭^{1,3,4}, 吴旭干^{1,3,4*}

(1. 上海海洋大学农业农村部鱼类营养和环境生态研究中心, 上海 201306;

2. 上海市水产研究所, 上海市水产技术推广站, 上海 200433;

3. 上海海洋大学上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306;

4. 上海海洋大学水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306)

摘要: 为研究长期盐度适应对雌性三疣梭子蟹生长、卵巢发育、渗透压调节、代谢和抗氧化能力的影响, 本实验设置了不同盐度(10、15、20和25)的水体, 对生殖蜕壳后三疣梭子蟹雌体进行60 d的盐度适应实验。结果显示: ①雌蟹的成活率、增重率、特定生长率和性腺指数随水体盐度的升高而显著上升。②血清渗透压、 Na^+ 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、大部分游离氨基酸和总游离氨基酸含量及后鳃 Na^+/K^+ -ATP酶活性均随水体盐度的升高而显著上升。③血清中葡萄糖和肝胰腺乳酸含量随水体盐度的升高而显著降低, 而血清中的尿素氮、尿酸及肝胰腺中的尿酸含量均随水体盐度的升高而显著上升; 肝胰腺中的甘油三酯、总胆固醇和尿素氮含量均在20和25盐度组较高。④10盐度组血清和肝胰腺中的总超氧化物歧化酶活性显著低于其他组, 而血清中的总抗氧化能力、谷胱甘肽过氧化物酶、 γ -谷氨酰转肽酶、血蓝蛋白和肝胰腺中的谷胱甘肽过氧化物酶、丙二醛水平均在10盐度组最高。研究表明, 水体盐度升高可促进三疣梭子蟹生长和卵巢发育; 在20和25盐度条件下, 雌蟹机体的代谢水平和氧化胁迫较低。

关键词: 三疣梭子蟹; 盐度; 卵巢发育; 渗透压调节; 代谢; 抗氧化能力

中图分类号: S 966.1

文献标志码: A

三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)是一种重要的海产经济蟹类, 其肉质鲜美、营养丰富, 市场经济价值较高, 已成为我国沿海地区的重要养殖品种^[1-2]。三疣梭子蟹是一种广盐性蟹类, 适宜盐度为10~35, 最适盐度为25~30^[3]。在自然条件下, 三疣梭子蟹具有其独特的生活史, 生长阶段主要在港湾或河口附近的浅海区域生活, 而在秋冬季节, 完成生殖蜕壳和交配后的雌蟹开始向深海区域移居越冬, 期间其卵巢不断发育和成熟, 而到了翌年3月底便开始向沿海各地浅海区域的产卵场进行洄游, 生殖洄游期间逐

渐产卵, 随后幼体在浅海区域孵化和生长发育^[4]。由于港湾、河口等近海区域的盐度通常受淡水径流、潮汐和暗流等多种因素的影响, 且浅海区域与深海区域的盐度存在一定差异^[5], 因此三疣梭子蟹的成活、生长和卵巢发育等生命活动均可能受到水体盐度变化的影响。

水体盐度是影响甲壳动物生理状态的重要环境因子之一, 盐度变化将直接影响其机体的渗透压, 甲壳动物通常做出相应的生理响应来适应环境盐度的变化^[6-7]。甲壳动物对盐度的适应主要通过血淋巴渗透压调控来实现, 形成血

收稿日期: 2018-06-25 修回日期: 2019-01-07

资助项目: 上海市科技兴农重点推广项目[农科攻字(2016)第1-1-8号]; 江苏省科技厅苏北科技专项(SZ-LYG2017019); 上海市科委工程技术中心能力提升项目(16DZ2281200); 上海高校水产学高峰学科建设项目(2015-62-0908)

通信作者: 吴旭干, E-mail: xgwu@shou.edu.cn

淋巴渗透压的主要成分是无机离子,其次是游离氨基酸、蛋白质、血糖和脂类等非离子成分^[8-9]。甲壳动物渗透压调节过程中无机离子的转运调控主要依赖其后鳃的离子转运蛋白(如 Na^+/K^+ -ATP酶)^[10-11]。此外,水体盐度变化会影响甲壳动物的能量代谢、抗氧化和免疫等多种生理过程,通常可通过检测组织中的葡萄糖(GLU)、尿素氮(BUN)、甘油三酯(TG)、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等代谢及抗氧化能力指标来了解甲壳动物对不同水体盐度的适应情况^[7, 12-13]。以往的研究表明,水体盐度变化还会影响中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)^[9]和罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)^[14]等甲壳动物雌体的卵巢发育。

目前有关水体盐度对三疣梭子蟹影响的研究主要集中于幼蟹生长阶段^[6, 12, 15],而成蟹阶段的研究相对较少,仅有少量关于短期盐度胁迫对其渗透压调节、基因表达和免疫性能影响的研究^[11, 16-17],但尚未见长期盐度适应对三疣梭子蟹雌体卵巢发育的影响及卵巢发育期间生理响应的报道。鉴于此,本研究设置不同盐度(10、15、20和25)的水体,对生殖蜕壳后三疣梭子蟹雌体进行为期60 d的盐度适应实验,研究不同水体盐度对三疣梭子蟹雌体成活、生长、卵巢发育、渗透压调节、代谢和抗氧化能力的影响,以期加强我们对三疣梭子蟹长期盐度适应机制的理解,同时为三疣梭子蟹雌体育苗和亲本培育提供理论依据和实践参考。

1 材料与方 法

1.1 实验对象及设计

实验用三疣梭子蟹由上海市水产研究所启东科研基地提供。根据宣富君等^[17]报道的方法,挑选135只完成生殖蜕壳、体质量为125~175 g、附肢健全和活力较好的雌蟹用于养殖实验。为了解雌蟹的卵巢发育情况,在正式实验前,随机解剖15只雌蟹,取出全部卵巢并准确称重,计算性腺指数(初始平均性腺指数为0.83%左右)。养殖实验在室内配备循环水系统的水泥池(长×宽×高=5.8 m×2.4 m×1.8 m)中进行,实验分别设计10(对照组)、15、20和25等4个水体盐度处理组,每个处理组重复30只雌蟹;由于三疣梭子蟹极易自相残杀导致成活率偏低,因此本实验采用单个体

养殖的方法,即每只蟹单独养殖于单体养殖筐(长×宽×高=33 cm×27.5 cm×35 cm,水深25 cm)中,养殖筐四周开孔方便水体交换流动。正式实验前,每个水泥池的水体盐度为30左右,然后采用曝气消毒的淡水将每个水泥池的水体盐度以3‰/d的速率调至实验所设计的盐度。实验蟹在养殖筐中暂养3~5 d适应环境后,于2016年10月20日开始正式实验。

1.2 养殖管理

实验期间,每日17:00左右投喂本研究室制备的配合饲料,投喂量根据水温和残饵情况进行调整,当水温高于20℃时投喂量为实验蟹体质量的3%左右,当水温在16~20℃时,投喂量调整为实验蟹体质量的1%~2%,投喂后3 h检查摄食情况,并于次日9:00左右检查残饵和三疣梭子蟹死亡情况,采用虹吸法除去粪便和残饵。实验期间不换水,采用循环水工艺对养殖水体进行净化处理,每个水泥池连续24 h充氧,每天测量各实验组水体盐度,并定期补充淡水保证水体盐度稳定。实验期间自然光照,水温为16~25℃,pH为7.0~9.0,溶解氧>5.0 mg/L,氨氮<0.50 mg/L,亚硝酸盐<0.10 mg/L。

1.3 样品采集

正式实验30 d后停食1 d,每个盐度组随机采样8只蟹。用干毛巾擦干体表水分后用电子天平(精确度=0.01 g)称重,用电子游标卡尺(精确度=0.02 mm)测量甲壳长和甲壳宽。将三疣梭子蟹置于冰上麻醉5 min后,用1.0 mL 无菌注射器从第三步足基部抽取2次共获得2 mL血淋巴,然后分装于2只1.5 mL离心管,于-40℃保存,用于实验蟹的渗透压、无机离子、游离氨基酸、代谢及抗氧化指标的分析。江山等^[18]的研究表明,三疣梭子蟹后3对鳃主要负责渗透压调节,因此解剖后取后3对鳃保存在-80℃超低温冰箱中,用于 Na^+/K^+ -ATP酶活性测定;取出每只蟹的肝胰腺于-40℃保存,用于实验蟹的代谢及抗氧化指标的分析。正式实验60 d后停食1 d,每个盐度组随机取8只蟹称重,解剖取出全部肝胰腺和卵巢并称量;卵巢和肝胰腺组织放入自封袋中于-40℃保存备用。计算每组雌蟹的成活率、增重率、特定生长率、性腺指数和肝胰腺指数,计算公式:

$$\text{成活率}(\text{survival rate}, SR, \%) = N_t/N_0 \times 100\%$$

增重率 (weight gain rate, WGR, %) =
 $(W_t - W_0) / W_0 \times 100\%$

特定生长率 (specific growth rate, SGR, %/d) =
 $(\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100\%$

性腺指数 (gonadosomatic index, GSI, %) =
 $W_g / W \times 100\%$

肝胰腺指数 (hepatosomatic index, HSI, %) =
 $W_h / W \times 100\%$

式中, N_t 为终末梭子蟹数量(只), N_0 为初始梭子蟹数量(只), W_t 为终末体质量(g), W_0 为初始体质量(g), W_g 为终末性腺质量(g), W_h 为终末肝胰腺质量(g), W 为梭子蟹体质量(g), t 为养殖天数(d)。

1.4 血清渗透压、离子浓度、游离氨基酸含量和鳃 Na^+/K^+ -ATP酶活性测定

参考Long等^[7]的方法, 三疣梭子蟹血淋巴样品经常温解冻后, 采用IKA匀浆器匀浆30 s, 然后在4 °C、12 000 r/min条件下离心20 min, 取出上清液(血清)用于渗透压、离子、游离氨基酸、代谢及抗氧化指标的分析。采用OSMOMAT 030冰点渗透压测定仪测定血清和水样的渗透压。采用K-Lite5电解质分析仪测定血清和水样中的 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 和 Ca^{2+} 浓度, 而 Mg^{2+} 浓度采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒进行测定。取200 μL 血清, 加入等体积的10%磺基水杨酸溶液混合均匀, 混合液在4 °C条件下静置30 min后, 在4 °C、15 000 r/min条件下离心20 min, 取1 mL上清液加入2 mL浓度为0.02 mol/L的盐酸溶液, 然后用日立L-8900氨基酸分析仪测定游离氨基酸(FAA)含量。取0.4 g左右的后鳃组织, 加入5倍体积预冷的生理盐水后, 采用IKA微型匀浆器在冰水浴中匀浆1 min, 匀浆液在4 °C、12 000 r/min条件下离心20 min, 取上清液并用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定可溶性蛋白含量及 Na^+/K^+ -ATP酶活性。

1.5 血清和肝胰腺中代谢及抗氧化指标的测定

使用“血清渗透压、离子浓度、游离氨基酸含量和鳃 Na^+/K^+ -ATP酶活性测定”方法制备的血清样品测定血清代谢及抗氧化指标。称取0.2 g左右的肝胰腺组织, 加入1 mL预冷的生理盐水后用IKA微型匀浆器匀浆30 s后, 在4 °C、12 000 r/min条件下离心20 min, 取中间清液再次离心后, 取

中间清液用于后续分析。采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定血清和肝胰腺中的总超氧化物歧化酶(T-SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、总抗氧化能力(T-AOC)、 γ -谷氨酰转氨酶(γ -GT)活性和丙二醛(MDA)含量。血清和肝胰腺中的尿素氮(BUN)和尿酸(UA)含量采用苏州科铭生物科技有限公司生产的试剂盒测定。血清中的血蓝蛋白(Hc)含量测定参考Nickerson等^[19]的方法, 用Tris-Ca缓冲液(50 mmol/L Tris-HCl+10 mmol/L CaCl_2 , pH=8.0)将血清稀释70倍后, 在335 nm波长下比色测定OD值, 血蓝蛋白含量(mg/mL)= $3.717 \times \text{OD}_{335} \times$ 稀释倍数。

1.6 数据分析

采用SPSS 16.0软件对实验数据进行统计分析, 所有数据均以平均值 \pm 标准误(mean \pm SE)表示。采用Levene法对所有数据进行方差齐性检验, 当不满足齐性方差时对百分比数据进行反正弦或平方根处理。采用ANOVA对实验数据进行方差分析, 用Duncan氏法进行多重比较, 取 $P < 0.05$ 时为差异显著。由于三疣梭子蟹群体养殖条件下容易自相残杀导致成活率较低, 本实验采用单个体养殖进行实验, 每个盐度组重复30只蟹, 故成活率数据无重复, 因此采用Pearson chi-square检验水体盐度和成活率的相关性^[20]。

2 结果

2.1 盐度对雌性三疣梭子蟹成活、生长和卵巢发育的影响

4组雌蟹的成活率分别为60.00%、66.67%、73.33%和80.00%, 采用Pearson chi-square检验表明, 水体盐度和成活率存在显著相关性($P < 0.05$)。就生长性能指标而言, 各盐度组雌蟹的 W_0 和 W_t 均无显著性差异($P > 0.05$, 表1), 但WGR和SGR均随水体盐度的上升整体呈现上升趋势, 且25盐度组的WGR和SGR均显著高于10盐度组($P < 0.05$), 但与其余2组间差异不显著($P > 0.05$)。雌蟹的GSI随水体盐度的升高呈上升趋势, 其中20和25盐度组的GSI显著高于10盐度组($P < 0.05$), 而各组雌蟹的HSI均无显著性差异($P > 0.05$, 表1)。

2.2 盐度对雌性三疣梭子蟹渗透压调节相关指标的影响

水体渗透压和盐度的线性模拟以及血清渗

表1 水体盐度对雌性三疣梭子蟹成活、生长和卵巢发育的影响

Tab. 1 Effects of water salinity on the survival, growth and ovarian development of adult female *P. trituberculatus*

项目 items	盐度 salinity treatment			
	10	15	20	25
初始体质量/g W_0	151.85±4.67	149.18±5.53	151.22±4.12	149.27±5.78
终末体质量/g W_t	161.28±7.45	159.85±6.74	163.11±6.80	162.38±6.29
增重率/% WGR	6.21±0.43 ^a	7.15±0.32 ^{ab}	7.86±0.39 ^{ab}	8.78±0.30 ^b
特定增长率/(%/d) SGR	0.10±0.01 ^a	0.12±0.01 ^{ab}	0.13±0.01 ^{ab}	0.14±0.01 ^b
性腺指数/% GSI	4.62±0.61 ^a	5.48±0.70 ^{ab}	6.03±0.48 ^b	6.74±0.60 ^b
肝胰腺指数/% HSI	4.21±0.56	5.10±0.54	4.83±0.63	4.15±0.55

注: 同行数据中上标字母不同表示差异显著($P<0.05$), 下同

Notes: the different superscripts in the same row means significant difference ($P<0.05$), the same below

透压和盐度的线性模拟结果显示, 三疣梭子蟹雌体的等渗点盐度为28.06(图1)。各组雌蟹血清的渗透压明显高于相应的水体渗透压, 且随水体盐度的升高呈显著上升趋势($P<0.05$, 图2-a)。就血清离子浓度而言, 各组雌蟹血清中的 K^+ 、 Na^+ 和 Cl^- 浓度均高于相应水体的离子浓度, 其中 Na^+ 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 浓度随水体盐度的上升整体呈上升趋势($P<0.05$), 但各组血清中的 K^+ 浓度无显著性差异($P>0.05$, 图2-b~f)。

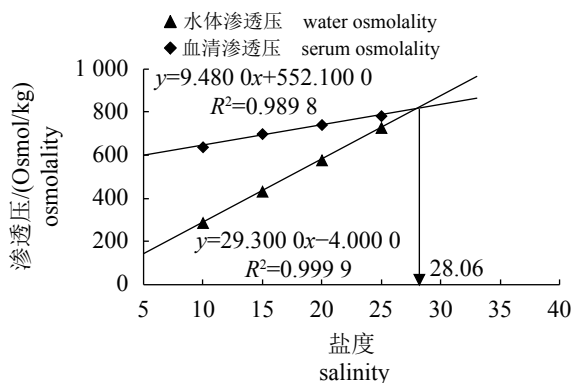


图1 三疣梭子蟹雌体的等渗点分析

Fig. 1 Isotonic point analysis of adult female *P. trituberculatus*

雌蟹血清中的天冬氨酸(Asp)、甘氨酸(Gly)、异亮氨酸(Ile)、亮氨酸(Leu)和酪氨酸(Tyr)含量随水体盐度的升高呈先上升后下降趋势, 在15盐度组最高, 在10盐度组最低($P<0.05$)(表2)。雌蟹血清中的苏氨酸(Thr)、谷氨酸(Glu)、丙氨酸(Ala)、缬氨酸(Val)、苯丙氨酸(Phe)、赖氨酸(Lys)和总游离氨基酸(TFAA)含量均随水体盐度的升高呈先

上升后降低趋势, 在20盐度组最高, 在10盐度组最低($P<0.05$)。丝氨酸(Ser)、精氨酸(Arg)和脯氨酸(Pro)含量随水体盐度的升高而显著上升, 而半胱氨酸(Cys)和组氨酸(His)含量随水体盐度的升高而显著降低($P<0.05$)。各组雌蟹血清中的甲硫氨酸(Met)和牛磺酸(Tau)含量均无显著性差异(表2)。

各组雌蟹后鳃中的 Na^+/K^+ -ATP酶活性随水体盐度的升高整体呈上升趋势, 其中20和25盐度组的 Na^+/K^+ -ATP酶活性显著高于10盐度组($P<0.05$)(图3)。

2.3 盐度对雌性三疣梭子蟹代谢指标的影响

在血清的代谢指标中, GLU含量随水体盐度的升高呈显著下降趋势, 而BUN和UA含量均呈显著上升趋势($P<0.05$); 各组血清TG、TC和LD含量均无显著性差异($P>0.05$)。在肝胰腺的代谢指标中, TG、TC和BUN含量均在20盐度组最高, 在15盐度组最低($P<0.05$); 肝胰腺中的UA含量随水体盐度的升高呈显著上升趋势, LD含量呈下降趋势($P<0.05$), 而各组GLU含量均无显著性差异($P>0.05$)(表3)。

2.4 盐度对雌性三疣梭子蟹抗氧化指标的影响

在血清的抗氧化指标中, 10盐度组T-SOD活性显著低于其他组, 而T-AOC和 γ -GT活性随水体盐度的升高呈显著下降趋势($P<0.05$); GSH-Px活性和Hc含量均在10盐度组最高($P<0.05$); 各组雌蟹血清中的MDA含量无显著性差异($P>0.05$)。在肝胰腺的抗氧化指标中, T-SOD活性随水体盐度的升高而显著上升, 而T-AOC活性随水体盐度的升高呈波动性变化, 在25盐度组最高; GSH-Px活性和MDA含量均随水体盐度的升高呈显著下

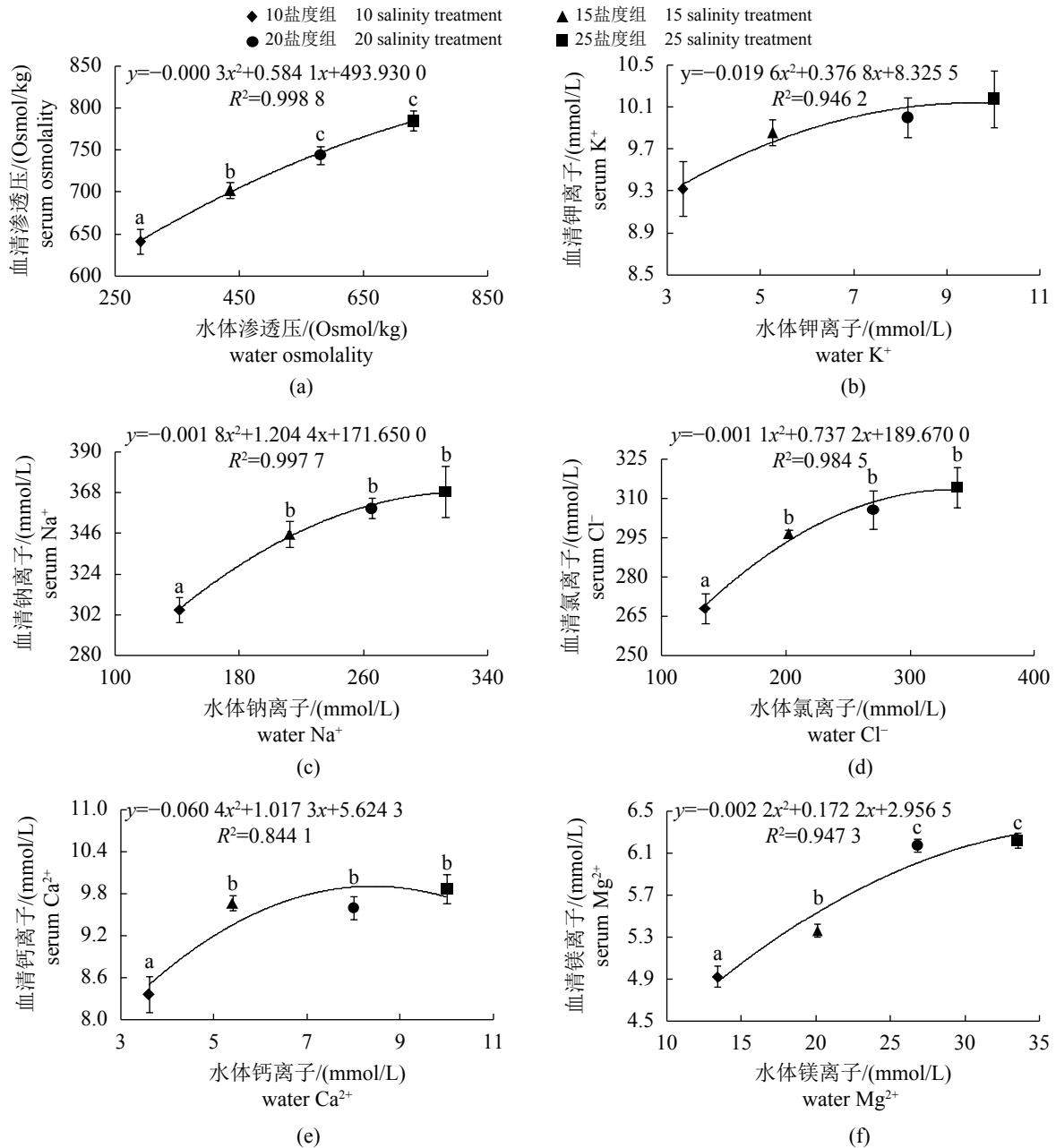


图2 水体盐度对三疣梭子蟹雌体血清渗透压和离子浓度的影响

图中不同小写字母表示不同盐度组之间差异显著($P < 0.05$)

Fig. 2 Effects of water salinity on the osmolality and ions concentrations in the serum of adult female *P. trituberculatus*

different letters indicated significant differences among different salinity treatments ($P < 0.05$)

降趋势($P < 0.05$)(表4)。

3 讨论

3.1 盐度对雌性三疣梭子蟹成活、生长和卵巢发育的影响

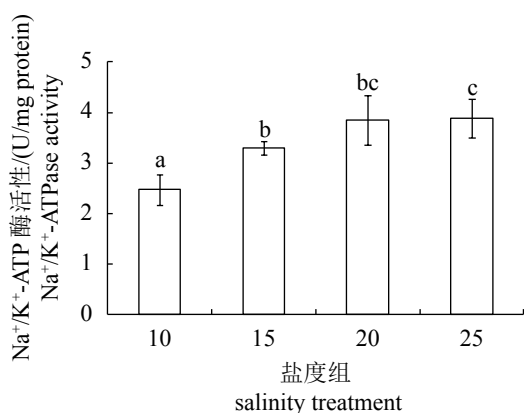
水体盐度是影响甲壳动物成活、生长和性

腺发育的重要环境因子之一。以往的研究表明,三疣梭子蟹幼蟹的SR、WGR和SGR随水体盐度的升高(0~30)呈明显上升趋势^[14, 21-22]。本研究中,雌性三疣梭子蟹的SR、WGR和SGR均随水体盐度的升高呈上升趋势。分析原因可能是由于25的水体盐度相对于其他盐度更接近三疣梭子蟹雌体的等渗点盐度(28.06),因此渗透压调节的能

表2 水体盐度对三疣梭子蟹雌体血清中游离氨基酸含量的影响

Tab. 2 Effects of water salinity on free amino acid content in the serum of adult female *P. trituberculatus* mg/L

游离氨基酸 free amino acids	盐度 salinity treatment			
	10	15	20	25
天冬氨酸 Asp	7.25±0.24 ^a	19.08±0.76 ^b	18.93±1.04 ^b	16.93±0.90 ^b
苏氨酸 Thr	31.63±2.61 ^a	48.81±1.69 ^b	58.96±3.08 ^c	57.67±3.50 ^c
丝氨酸 Ser	7.52±0.18 ^a	12.67±0.93 ^b	12.29±0.65 ^b	13.58±0.72 ^b
谷氨酸 Glu	17.42±0.84 ^a	22.32±0.90 ^b	30.44±2.46 ^c	25.72±1.32 ^b
甘氨酸 Gly	42.17±2.38 ^a	108.14±5.97 ^b	104.57±4.81 ^b	92.27±8.00 ^b
丙氨酸 Ala	21.29±0.92 ^a	39.60±1.32 ^b	69.66±5.51 ^c	68.19±4.54 ^c
半胱氨酸 Cys	6.47±0.50 ^b	6.12±0.57 ^b	5.75±0.57 ^b	3.79±0.51 ^a
缬氨酸 Val	7.92±0.45 ^a	14.29±0.80 ^c	15.71±0.63 ^c	10.70±0.80 ^b
甲硫氨酸 Met	12.61±0.86	13.76±0.80	12.80±0.62	13.62±0.97
异亮氨酸 Ile	5.22±0.56 ^a	8.17±0.42 ^b	6.85±0.76 ^{ab}	5.22±0.47 ^a
亮氨酸 Leu	9.22±0.94 ^a	12.02±0.65 ^b	11.85±0.96 ^{ab}	9.52±0.89 ^{ab}
酪氨酸 Tyr	8.90±0.61 ^a	11.92±0.44 ^c	10.58±0.47 ^{bc}	9.23±0.47 ^{ab}
苯丙氨酸 Phe	7.03±0.77 ^a	7.54±0.59 ^{ab}	9.78±0.96 ^b	8.14±0.75 ^{ab}
组氨酸 His	17.85±0.41 ^c	19.01±0.84 ^c	6.63±0.54 ^b	3.23±0.14 ^a
赖氨酸 Lys	16.34±0.89 ^a	16.44±1.03 ^a	25.39±0.32 ^b	17.61±0.61 ^a
精氨酸 Arg	46.69±3.93 ^a	51.53±5.11 ^{ab}	62.19±5.12 ^b	62.42±4.04 ^b
脯氨酸 Pro	51.88±1.34 ^a	92.21±5.54 ^b	161.22±8.80 ^c	164.47±11.89 ^c
牛磺酸 Tau	162.00±6.28	156.15±10.64	156.80±11.48	140.53±7.05
总游离氨基酸 TFAA	372.74±27.73 ^a	659.78±20.66 ^b	780.40±25.19 ^c	722.85±23.29 ^{bc}

图3 水体盐度对三疣梭子蟹雌体后鳃Na⁺/K⁺-ATP酶活性的影响

柱子不同小写字母表示不同盐度组之间差异显著(P<0.05)

Fig. 3 Effects of water salinity on Na⁺/K⁺-ATPase activity in the posterior gills of adult female *P. trituberculatus*

different letters on the tops of the bars indicate significant differences among different salinity treatments (P<0.05)

量消耗较少,有利于三疣梭子蟹的生长^[15,22]。此外,值得注意的是各盐度组三疣梭子蟹雌体的增重率为6.21%~8.78%,明显低于幼蟹和亚成体阶段的增重率^[15,23],这主要是由于甲壳动物的生长主要依赖于蜕壳,而本研究中的三疣梭子蟹为生殖蜕壳后的雌蟹,已经完成了最后一次蜕壳,养殖期间无需蜕壳,因此增重率相对较低。本实验中,三疣梭子蟹雌体的GSI随水体盐度的升高呈显著上升趋势,这与以往对中华绒螯蟹和罗氏沼虾的研究相一致^[9,14]。分析其原因:①与低盐度组相比,高盐度组水体的盐度(25)更加接近雌蟹的等渗点盐度(28.06),用于渗透压调节的能量相对较少^[15],因此有更多的营养物质和能量用于卵巢发育^[14];②高盐度组水体中的Ca²⁺等无机离子的浓度较高,而Ca²⁺通常是甲壳动物卵黄蛋白原合成过程中的重要离子,因此盐度升高有利于卵黄蛋白原的合成,从而促进了卵巢发育^[24];③高盐度水体可能通过提高雌蟹体内的性类固醇激素含量从而促进卵巢发育^[25-26]。

表 3 水体盐度对三疣梭子蟹雌体血清和肝胰腺中代谢指标的影响

Tab. 3 Effects of water salinity on the metabolism indices in the serum and hepatopancreas of adult female *P. trituberculatus*

指标 indices	盐度组 salinity treatment			
	10	15	20	25
血清 serum				
葡萄糖/(mmol/L) GLU	4.41±0.06 ^c	4.21±0.08 ^b	4.16±0.13 ^{ab}	4.02±0.16 ^a
甘油三酯/(mmol/L) TG	0.35±0.03	0.32±0.04	0.32±0.03	0.37±0.04
总胆固醇/(mmol/L) TC	0.37±0.03	0.35±0.03	0.32±0.04	0.34±0.02
尿素氮/(mmol/L) BUN	0.09±0.01 ^a	0.11±0.00 ^{ab}	0.13±0.01 ^{bc}	0.14±0.01 ^c
尿酸/(μmol/L) UA	19.83±1.14 ^a	23.54±0.92 ^{ab}	26.95±1.90 ^{bc}	30.36±1.77 ^c
乳酸/(mmol/L) LD	0.80±0.04	0.84±0.04	0.85±0.04	0.86±0.03
肝胰腺 hepatopancreas				
葡萄糖/(mg/g tissue) GLU	1.48±0.07	1.42±0.06	1.48±0.06	1.53±0.03
甘油三酯/(mmol/100 g protein) TG	10.58±1.20 ^{ab}	9.70±0.49 ^a	11.86±0.75 ^b	10.76±0.57 ^{ab}
总胆固醇/(mmol/100 g protein) TC	2.53±0.50 ^a	2.51±0.33 ^a	2.83±0.19 ^b	2.65±0.24 ^{ab}
尿素氮/(mg/g tissue) BUN	0.26±0.01 ^b	0.21±0.01 ^a	0.26±0.02 ^b	0.25±0.02 ^b
尿酸/(μmol/g protein) UA	12.65±1.41 ^a	15.48±1.39 ^{ab}	18.11±0.77 ^b	22.68±1.00 ^c
乳酸/(mmol/100 g protein) LD	7.07±0.33 ^b	6.91±0.58 ^{ab}	6.31±0.31 ^{ab}	5.97±0.27 ^a

表 4 水体盐度对三疣梭子蟹雌体血清中抗氧化指标的影响

Tab. 4 Effects of water salinity on the antioxidant indices in the serum of adult female *P. trituberculatus*

指标 indices	盐度 salinity treatment			
	10	15	20	25
血清 serum				
总超氧化物歧化酶/(U/mL) T-SOD	29.71±2.98 ^a	48.36±3.13 ^c	43.10±3.36 ^b	43.95±2.38 ^b
总抗氧化能力/(U/mL) T-AOC	7.67±0.39 ^b	7.14±0.26 ^b	6.93±0.37 ^b	4.85±0.36 ^a
谷胱甘肽过氧化物酶/(U/mL) GSH-Px	80.55±1.97 ^b	74.36±1.24 ^a	73.25±1.62 ^a	77.76±1.68 ^{ab}
丙二醛/(nmol/mL) MDA	17.69±1.08	16.46±0.61	16.62±0.73	16.38±0.71
血红素蛋白/(mg/mL) Hc	64.05±0.76 ^b	62.59±0.25 ^a	62.88±0.33 ^{ab}	62.49±0.24 ^a
γ-谷氨酰转肽酶/(U/L) γ-GT	1.42±0.16 ^b	1.37±0.26 ^{ab}	1.32±0.15 ^{ab}	1.23±0.12 ^a
肝胰腺 hepatopancreas				
总超氧化物歧化酶/(U/mg protein) T-SOD	0.74±0.06 ^a	0.99±0.08 ^b	1.11±0.06 ^{bc}	1.21±0.07 ^c
总抗氧化能力/(U/mg protein) T-AOC	0.84±0.02 ^a	1.03±0.07 ^b	0.88±0.03 ^{ab}	1.06±0.06 ^b
谷胱甘肽过氧化物酶/(U/mg protein) GSH-Px	35.90±1.75 ^b	28.69±1.48 ^{ab}	23.33±1.61 ^a	22.96±0.82 ^a
丙二醛/(nmol/mg protein) MDA	1.61±0.13 ^c	1.49±0.10 ^b	1.47±0.06 ^b	1.30±0.07 ^a

3.2 盐度对雌性三疣梭子蟹渗透压调节的影响

甲壳动物对盐度的适应能力主要体现在对渗透压和离子浓度的调节能力上,而这种调节

主要由鳃等渗透调节器官来完成^[27]。后鳃是甲壳动物渗透压调节的主要器官,这与其细胞膜上的离子转运蛋白(如Na⁺/K⁺-ATP酶)密切相关^[7, 11]。

本实验中,三疣梭子蟹雌体后鳃中的 Na^+/K^+ -ATP酶活性随水体盐度的升高而上升,这可能由于三疣梭子蟹是一种渗透压调节随变型的甲壳动物,即其体内的渗透压和离子浓度随外界盐度的变化而变化,并与环境保持一致^[28-29],因此水体离子浓度的升高可能激活了鳃中 Na^+/K^+ -ATP酶等离子转运蛋白的活性^[30]。

无机离子是甲壳动物血淋巴渗透压形成的主要成分^[31]。本研究表明,三疣梭子蟹雌体血清渗透压随水体盐度的升高而显著上升,这与锯缘青蟹(*Scylla serrata*)和中华绒螯蟹的研究结果相似^[7,10],这是因为随着水体盐度的升高,雌蟹血清中的无机离子浓度也提高了。除无机离子外,游离氨基酸也是甲壳动物血淋巴渗透压的组成部分^[8-9],本实验中,雌蟹血清的Thr、Glu、Gly、Ala、Arg、Pro和Tau含量相对较高,均高于20 mg/L,同时大部分游离氨基酸及TFAA含量随水体盐度的升高整体呈上升趋势,这与斑节对虾(*Penaeus monodon*)^[32]、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)^[33]及三疣梭子蟹成蟹短期盐度胁迫的实验结果相似^[8],但与其渗透压调节类型的差异有关,三疣梭子蟹属于渗透压调节随变型物种,自身渗透压调节能力较弱,因此血清中大部分游离氨基酸含量随水体盐度的升高而上升,以保持血淋巴渗透压与环境相一致,而中华绒螯蟹属于强渗透压调节者,渗透压调节能力较强,能主动调节自身血淋巴渗透压,并维持在一定水平^[28-29]。

3.3 盐度对雌性三疣梭子蟹代谢的影响

渗透压调节是一个能量消耗的过程,因此,通过代谢指标通常可在一定程度上了解不同盐度条件下甲壳动物的能量代谢情况^[7,9]。葡萄糖是甲壳动物渗透压调节过程中的重要能量物质^[9,34]。本实验中,10盐度组雌蟹血清GLU含量显著高于其他组,这是由于低盐度(10)条件下水体盐度明显低于雌蟹的等渗点盐度(28.06),渗透压调节所需能量也相对较高^[15],因此低盐度条件下,雌蟹体内糖原分解为单糖的代谢水平升高,从而导致血清GLU含量上升^[7]。此外,TG也是蟹类盐度适应过程中的重要能量物质^[35]。本研究表明,25盐度组三疣梭子蟹雌体肝胰腺中的TG含量相对较高,这是由于高盐度条件下,雌

蟹渗透压调节的能耗相对较少^[36],因此有利于肝胰腺中TG的积累^[7]。TC是甲壳动物体内多种激素合成的前体物质,在性腺发育和蜕皮等多种生命过程中发挥重要作用^[37-38]。本实验中,20和25盐度组雌蟹肝胰腺的TC含量相对较高,这可能与高盐度条件下快速发育的卵巢对胆固醇需求较高有关^[9,38]。

BUN和UA是蛋白质代谢的终产物,其含量变化可反映甲壳动物体内蛋白质的代谢情况^[39-40]。本实验结果显示,三疣梭子蟹雌体血清中的BUN和UA含量随水体盐度的升高而显著上升,这与以往的研究结果相似^[9,36]。研究表明,随水体盐度的升高,甲壳动物体内氨氮排泄率降低,有毒性的氨氮转化为毒性相对较小的尿素、氨基酸等各种含氮化合物^[41-42],说明尿素氮的合成对维持三疣梭子蟹雌体的正常氮代谢具有非常重要的作用。此外,三疣梭子蟹雌体血清和肝胰腺中的UA含量均随水体盐度的升高而显著上升,这可能与高盐度条件下体内尿酸分解为尿素的速率降低有关^[39,43]。LD是动物体内无氧代谢的终产物,其含量的高低反映了体内的无氧代谢水平^[44]。本实验中,三疣梭子蟹雌体肝胰腺中的LD含量随水体盐度的升高而显著降低,说明低盐度条件下雌蟹肝胰腺中的无氧代谢水平较高。

3.4 盐度对雌性三疣梭子蟹抗氧化能力的影响

抗氧化及免疫相关指标通常可以在一定程度上反映甲壳动物对水体盐度的适应情况^[9,45]。以往的研究表明,凡纳滨对虾、斑节对虾、中华绒螯蟹和锯缘青蟹等甲壳动物在低盐度条件或低盐度胁迫下,其血淋巴和肝胰腺中的T-SOD活性显著降低^[7,45-47]。本实验中,10盐度组三疣梭子蟹雌体血清和肝胰腺中的T-SOD活性显著低于其他组,这说明雌蟹在10盐度条件下受到了重度胁迫。雌蟹血清和肝胰腺中的GSH-Px活性均在10盐度组较高,这可能是由于在低盐度(10)条件下,雌蟹体内产生了较多的过氧化物,从而刺激GSH-Px活性升高^[48]。MDA是动物体内脂质过氧化的终产物,其含量可反映组织中脂质过氧化、自由基的水平和细胞氧化损伤程度^[49]。本实验中,三疣梭子蟹雌体血清和肝胰腺中的MDA含量均随水体盐度的升高呈下降趋势,说明低盐度条件下三疣梭子蟹雌体受到的氧化胁迫较大。

Hc是甲壳动物的血淋巴中的主要蛋白质之一,其在氧气运输和免疫防御等多种生理功能中发挥着重要作用^[13,44]。本研究中,雌蟹血清中的Hc含量在低盐度组(10)组较高,这与以往在中华绒螯蟹和凡纳滨对虾上的研究结果相似^[13,50],可能是由于在低盐度条件下蟹类呼吸代谢旺盛^[51],从而刺激Hc的合成。 γ -GT是一种质膜结合糖蛋白,作为 γ -谷氨酰循环中的关键酶^[9,52],当其活性显著升高时暗示动物肝细胞受到一定的损伤。本研究中,三疣梭子蟹血清中的 γ -GT活性在10盐度组最高,该结果暗示在低盐度(10)条件下雌蟹受到的胁迫较大。

综上,水体盐度的升高可提高三疣梭子蟹雌体的成活率,促进卵巢发育,提高血清渗透压、无机离子浓度和总游离氨基酸含量及后鳃 Na^+/K^+ -ATP酶活性,降低雌蟹机体能量代谢水平和氧化胁迫。

参考文献:

- [1] 吴旭干,汪倩,楼宝,等. 育肥时间对三疣梭子蟹卵巢发育和营养品质的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(2): 170-182.
Wu X G, Wang Q, Lou B, *et al.* Effects of fattening period on ovarian development and nutritional quality of female swimming crab (*Portunus trituberculatus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(2): 170-182(in Chinese).
- [2] 农业部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴2016[M]. 北京: 中国农业出版社, 2016.
The People's Republic of China Ministry of Agriculture, Fisheries Bureau. China fishery statistical yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2016 (in Chinese).
- [3] 胡则辉,徐君卓,石建高. 浙江沿海三疣梭子蟹的养殖模式[J]. 现代渔业信息, 2011, 26(3): 3-5.
Hu Z H, Xu J Z, Shi J G. Farming modes of swimming crab (*Portunus trituberculatus*) along the coast of Zhejiang Province[J]. Modern Fisheries Information, 2011, 26(3): 3-5(in Chinese).
- [4] 戴爱云,冯钟琪,宋玉枝,等. 三疣梭子蟹渔业生物学的初步调查[J]. 动物学杂志, 1977(2): 30-33.
Dai A Y, Feng Z Q, Song Y Z, *et al.* Preliminary investigation on fishery biology of *Portunus trituberculatus*[J]. Chinese Journal of Zoology, 1977(2): 30-33(in Chinese).
- [5] 林传兰,徐炳荣,黄树生,等. 浙江沿海水域温、盐度的年际变化和渔况变动的关系[J]. 水产学报, 1993, 17(2): 85-94.
Lin C L, Xu B R, Huang S S, *et al.* Interannual variation of temperature and salinity in relating to fishery condition of the Zhejiang offshore waters[J]. Journal of Fisheries of China, 1993, 17(2): 85-94(in Chinese).
- [6] 孔杰,栾生,罗坤,等. 不同盐度下凡纳滨对虾生长和存活性状遗传评估[J]. 水产学报, 2017, 41(4): 573-579.
Kong J, Luan S, Luo K, *et al.* Genetic evaluation for body weight and survival of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) at different salinity[J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(4): 573-579(in Chinese).
- [7] Long X W, Wu X G, Zhao L, *et al.* Effects of salinity on gonadal development, osmoregulation and metabolism of adult male Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*[J]. PLoS One, 2017, 12(6): e0179036.
- [8] 付萍,吕建建,刘萍,等. 盐度胁迫对三疣梭子蟹肌肉和血淋巴中游离氨基酸含量的影响[J]. 水产学报, 2017, 41(3): 374-381.
Fu P, Lü J J, Liu P, *et al.* Effects of different salinity level on free amino acid composition in muscle and hemolymph of the swimming crab *Portunus trituberculatus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(3): 374-381(in Chinese).
- [9] Long X W, Wu X G, Zhao L, *et al.* Physiological responses and ovarian development of female Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* subjected to different salinity conditions[J]. Frontiers in Physiology, 2018, 8: 1072.
- [10] Romano N, Wu X G, Zeng C S, *et al.* Growth, osmoregulatory responses and changes to the lipid and fatty acid composition of organs from the mud crab, *Scylla serrata*, over a broad salinity range[J]. Marine Biology Research, 2014, 10(5): 460-471.
- [11] Han X L, Liu P, Gao B Q, *et al.* Na^+/K^+ -ATPase α -subunit in swimming crab *Portunus trituberculatus*: Molecular cloning, characterization, and expression under low salinity stress[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2015, 33(4): 828-837.
- [12] 马金武,吕建建,刘萍,等. 盐度胁迫对三疣梭子蟹“黄选1号”血清部分生化指标的影响[J]. 水产学报, 2017, 41(4): 506-511.
Ma J W, Lü J J, Liu P, *et al.* Effects of salinity stress on

- serum partial biochemical indicators of "Huangxuan No. 1" *Portunus trituberculatus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(4): 506-511(in Chinese).
- [13] Li E C, Chen L Q, Zeng C, *et al.* Comparison of digestive and antioxidant enzymes activities, haemolymph oxyhemocyanin contents and hepatopancreas histology of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at various salinities[J]. *Aquaculture*, 2008, 274(1): 80-86.
- [14] Yen P T, Bart A N. Salinity effects on reproduction of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man)[J]. *Aquaculture*, 2008, 280(1-4): 124-128.
- [15] 路允良, 王芳, 赵卓英, 等. 盐度对三疣梭子蟹生长、蜕壳及能量利用的影响[J]. 中国水产科学, 2012, 19(2): 237-245.
- Lu Y L, Wang F, Zhao Z Y, *et al.* Effects of salinity on growth, molt and energy utilization of juvenile swimming crab *Portunus trituberculatus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2012, 19(2): 237-245(in Chinese).
- [16] 郑萍萍, 王春琳, 宋微微, 等. 盐度胁迫对三疣梭子蟹血清非特异性免疫因子的影响[J]. 水产科学, 2010, 29(11): 634-638.
- Zheng P P, Wang C L, Song W W, *et al.* Effect of salinity stress on serum non-specific immune factors in swimming crab *Portunus trituberculatus*[J]. *Fisheries Science*, 2010, 29(11): 634-638(in Chinese).
- [17] 宣富君, 姜森颢, 卞勋光, 等. 室内养殖条件下三疣梭子蟹的生殖蜕壳和交配行为[J]. 动物学杂志, 2014, 49(4): 579-586.
- Xuan F J, Jiang S H, Bian X G, *et al.* Reproductive molt and mating behavior of the swimming crab *Portunus trituberculatus* in the laboratory-reared condition[J]. Chinese Journal of Zoology, 2014, 49(4): 579-586(in Chinese).
- [18] 江山, 许强华. 盐度胁迫对三疣梭子蟹鳃 Na^+/K^+ -ATPase酶活的影响[J]. 水产学报, 2011, 35(10): 1475-1480.
- Jiang S, Xu Q H. Influence of salinity stress on the activity of gill Na^+/K^+ -ATPase in swimming crab (*Portunus trituberculatus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(10): 1475-1480(in Chinese).
- [19] Nickerson K W, Van Holde K E. A comparison of molluscan and arthropod hemocyanin—I. Circular dichroism and absorption spectra[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Comparative Biochemistry*, 1971, 39(4): 855-872.
- [20] Holme M H, Southgate P C, Zeng C S. Survival, development and growth response of mud crab, *Scylla serrata*, megalopae fed semi-purified diets containing various fish oil: corn oil ratios[J]. *Aquaculture*, 2007, 269(1-4): 427-435.
- [21] 周裕华, 潘桂平, 周文玉, 等. 水体盐度对三疣梭子蟹生长及存活的影响[J]. 湖南农业科学, 2014(10): 64-66.
- Zhou Y H, Pan G P, Zhou W Y, *et al.* Influences of different salinities on growth and survival rate of *Portunus trituberculatus*[J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2014(10): 64-66(in Chinese).
- [22] 吕富, 黄金田, 於叶兵, 等. 盐度对三疣梭子蟹生长、肌肉组成及蛋白酶活性的影响[J]. 海洋湖沼通报, 2010(4): 137-142.
- Lv F, Huang J T, Yu Y B, *et al.* Affects of salinity on growth, muscle composition, and protease activity of *Portunus trituberculatus*[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2010(4): 137-142(in Chinese).
- [23] 侯文杰, 潘桂平, 龙晓文, 等. 三种饵料对三疣梭子蟹亚成体成活、蜕壳、生长和生化组成的影响[J]. 动物学杂志, 2016, 51(4): 642-654.
- Hou W J, Pan G P, Long X W, *et al.* Effects of three diets on survival, molting, growth and biochemical composition of pre-adult *Portunus trituberculatus*[J]. Chinese Journal of Zoology, 2016, 51(4): 642-654(in Chinese).
- [24] 魏薇, 魏华. 水环境中的 Ca^{2+} 浓度对中华绒螯蟹早熟和存活的影响[J]. 淡水渔业, 2005, 35(3): 10-12.
- Wei W, Wei H. Effects of concentration of Ca^{2+} on precociousness and survival of the Chinese mitten-handed crab[J]. *Freshwater Fisheries*, 2005, 35(3): 10-12(in Chinese).
- [25] 吴嘉敏, 姜新耀. 中华绒螯蟹血淋巴钙离子和 17β -雌二醇浓度与性早熟的关系[J]. 水产学报, 2001, 25(2): 112-115.
- Wu J M, Jiang X Y. The relationships between Ca^{2+} , 17β -estradiol levels in the hemolymph and precociousness of *Eriocheir sinensis*[J]. Journal of Fisheries of China, 2001, 25(2): 112-115(in Chinese).
- [26] 魏薇, 魏华, 刘青. 中华绒螯蟹体内的雌二醇对性早熟的影响[J]. 水产学报, 2005, 29(6): 862-865.
- Wei W, Wei H, Liu Q. Effect of estradiol in hemolymph and gonad on precociousness of *Eriocheir sinensis*[J].

- Journal of Fisheries of China, 2005, 29(6): 862-865(in Chinese).
- [27] 周双林, 姜乃澄, 卢建平, 等. 甲壳动物渗透压调节的研究进展 I. 鳃的结构与功能及其影响因子[J]. *东海海洋*, 2001, 19(1): 44-51.
Zhou S L, Jiang N C, Lu J P, *et al.* Progress of the study on osmotic regulation in crustaceans I. The gill's structure and function and its concerned factors[J]. *Donghai Marine Science*, 2001, 19(1): 44-51(in Chinese).
- [28] Péqueux A. Osmotic regulation in crustaceans[J]. *Journal of Crustacean Biology*, 1995, 15(1): 1-60.
- [29] Romano N, Zeng C S. Osmoregulation in decapod crustaceans: implications to aquaculture productivity, methods for potential improvement and interactions with elevated ammonia exposure[J]. *Aquaculture*, 2012, 334-337: 12-23.
- [30] Castilho P C, Martins I A, Bianchini A. Gill Na^+ , K^+ -ATPase and osmoregulation in the estuarine crab, *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 (Decapoda, Grapsidae)[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2001, 256(2): 215-227.
- [31] Chen J C, Chia P G. Osmotic and ionic concentrations of *Scylla serrata* (Forskål) subjected to different salinity levels[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Physiology*, 1997, 177(2): 239-244.
- [32] Fang L S, Tang C K, Lee D L, *et al.* Free amino acid composition in muscle and hemolymph of the prawn *Penaeus monodon* in different salinities[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1992, 58(6): 1095-1102.
- [33] 梁萌青, 王士稳, 王家林, 等. 不同盐度对凡纳滨对虾血淋巴及肌肉游离氨基酸组成的影响[J]. *渔业科学进展*, 2009, 30(2): 34-39.
Liang M Q, Wang S W, Wang J L, *et al.* Effects of different salinities on free amino acid composition in muscle and hemolymph of the shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2009, 30(2): 34-39(in Chinese).
- [34] Al-Azhary D B, Tawfek N S, Meligi N M, *et al.* Physiological responses to hyper-saline waters in *Necora puber* (Velvet Crab)[J]. *Pakistan Journal of Physiology*, 2008, 4(2): 1-6.
- [35] Luvizotto-Santos R, Lee J T, Branco Z P, *et al.* Lipids as energy source during salinity acclimation in the euryhaline crab *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 (Crustacea-Grapsidae)[J]. *Journal of Experimental Zoology-Part A: Comparative Experimental Biology*, 2003, 295(2): 200-205.
- [36] Romano N, Zeng C S. The effects of salinity on the survival, growth and haemolymph osmolality of early juvenile blue swimmer crabs, *Portunus pelagicus*[J]. *Aquaculture*, 2006, 260(1-4): 151-162.
- [37] Harrison K E. The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustaceans: a review[J]. *Journal of Shellfish Research*, 1990, 9: 1-28.
- [38] Pattiasina B J, Junior M Z, Mokoginta I, *et al.* Ovarian development of female mud crab, *Scylla serrata* supplemented with cholesterol and injected with serotonin[J]. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 2010, 9(1): 67-76.
- [39] Regnault M. Effect of air exposure on nitrogen metabolism in the crab *Cancer pagurus*[J]. *Journal of Experimental Zoology*, 1992, 264(4): 372-380.
- [40] Chen J C, Lin C Y. Responses of oxygen consumption, ammonia-N excretion and urea-N excretion of *Penaeus chinensis* exposed to ambient ammonia at different salinity and pH levels[J]. *Aquaculture*, 1995, 136(3-4): 243-255.
- [41] Lee W C, Chen J C. Hemolymph ammonia, urea and uric acid levels and nitrogenous excretion of *Marsupenaeus japonicus* at different salinity levels[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2003, 288(1): 39-49.
- [42] Cheng S Y, Chen J C. Effects of nitrite exposure on the hemolymph electrolyte, respiratory protein and free amino acid levels and water content of *Penaeus japonicus*[J]. *Aquatic Toxicology*, 1998, 44(1/2): 129-139.
- [43] Weihrauch D, Morris S, Towle D W. Ammonia excretion in aquatic and terrestrial crabs[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2004, 207(26): 4491-4504.
- [44] Qiu R J, Cheng Y X, Huang X X, *et al.* Effect of hypoxia on immunological, physiological response, and hepatopancreatic metabolism of juvenile Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*[J]. *Aquaculture International*, 2011, 19(2): 283-299.
- [45] Paital B, Chainy G B N. Antioxidant defenses and

- oxidative stress parameters in tissues of mud crab (*Scylla serrata*) with reference to changing salinity[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2010, 151(1): 142-151.
- [46] Wang F I, Chen J C. Effect of salinity on the immune response of tiger shrimp *Penaeus monodon* and its susceptibility to *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2006, 20(5): 671-681.
- [47] Wang L U, Chen J C. The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* at different salinity levels[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2005, 18(4): 269-278.
- [48] 周东, 母昌考, 宋微微, 等. 低盐胁迫对三疣梭子蟹组织中抗氧化酶和ATP酶活力的影响[J]. *生态科学*, 2014, 33(4): 698-703.
- Zhou D, Mu C K, Song W W, *et al.* Effects of low salinity stress on the antioxidant enzyme and ATPase activities in tissues of swimming crab *Portunus trituberculatus*[J]. *Ecological Science*, 2014, 33(4): 698-703(in Chinese).
- [49] Long X W, Wu X G, Zhao L, *et al.* Effects of dietary supplementation with *Haematococcus pluvialis* cell powder on coloration, ovarian development and antioxidation capacity of adult female Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*[J]. *Aquaculture*, 2017, 473: 545-553.
- [50] 庄平, 贾小燕, 冯广朋, 等. 不同盐度条件下中华绒螯蟹亲蟹行为及血淋巴生理变化[J]. *生态学杂志*, 2012, 31(8): 1997-2003.
- Zhuang P, Jia X Y, Feng G P, *et al.* Variations of behavior and haemolymph physiology of female parent Chinese crab (*Eriocheir sinensis*) under different water salinities[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2012, 31(8): 1997-2003(in Chinese).
- [51] Welcomme L, Devos P. Energy consumption in the perfused gills of the euryhaline crab *Eriocheir sinensis* [H. Miln. Edw.] adapted to freshwater[J]. *Journal of Experimental Zoology*, 1991, 257(2): 150-159.
- [52] Whitfield J B. Gamma glutamyl transferase[J]. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 2001, 38(4): 263-355.

Effects of water salinity on the growth, ovarian development, osmoregulation, metabolism and antioxidant capacity of adult female swimming crab (*Portunus trituberculatus*)

LONG Xiaowen¹, WU Renfu¹, HOU Wenjie², PAN Guiping², CHENG Yongxu^{1,3,4}, WU Xugan^{1,3,4*}

(1. Centre for Research on Environmental Ecology and Fish Nutrition, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Shanghai Fisheries Research Institute, Shanghai Fisheries Technical Extension Station, Shanghai 200433, China;

3. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

4. National Demonstration Centre for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: In order to investigate the effects of long-term salinity adaptation on growth, ovarian development, osmoregulation, metabolism and antioxidant capacity of adult female swimming crab (*Portunus trituberculatus*), adult female *P. trituberculatus* post puberty molt was subjected to four water salinities (10, 15, 20 and 25) for 60 days. The results showed as follows: The survival rate, weight gain rate, specific growth rate and gonadosomatic index of female crabs increased significantly with increasing water salinity. The serum osmolality and the contents of Na⁺, Cl⁻, Ca²⁺, Mg²⁺ and major free amino acids, and total free amino acids in the serum, as well as the posterior gills Na⁺/K⁺-ATPase activity showed an overall increasing trend with increasing water salinity. The contents of serum glucose and hepatopancreas lactic acid decreased significantly with increasing water salinity, while the levels of serum urea nitrogen, uric acid, and hepatopancreas uric acid showed an increasing trend. The higher contents of triglyceride, total cholesterol and urea nitrogen in the hepatopancreas were detected in 20 and 25 salinity treatments. The activity of total superoxide dismutase in the serum and hepatopancreas of females from 10 salinity treatment was significantly lower than that of other salinity treatments, while the highest levels of total antioxidant capacity, glutathione peroxidase, γ -glutamyl transpeptidase and hemocyanin in the serum, as well as and hepatopancreas glutathione peroxidase and malondialdehyde were detected at 10 salinity treatment. In conclusion, elevating water salinity could promote the growth and ovarian development of adult female *P. trituberculatus*, and the females had lower levels of metabolism and oxidative stress under the conditions of 20 and 25 salinities.

Key words: *Portunus trituberculatus*; water salinity; ovarian development; osmoregulation; metabolism; antioxidant capacity

Corresponding author: WU Xugan. E-mail: xgwu@shou.edu.cn

Funding projects: Extension Project from Shanghai Agriculture Committee (2016-1-1-8); Science and Technology Special Project of Northern of Jiangsu Province Department (SZ-LYG2017019); Capacity Promotion Projects of Shanghai Engineering and Technology Center from Shanghai Municipal Science and Technology Commission (16DZ2281200); Shanghai Universities Top Disciplines Project of Fisheries from Shanghai Municipal Education Committee (2015-62-0908)