

文章编号:1000 - 0615(2001)02 - 0112 - 04

中华绒螯蟹血淋巴钙离子和 17 - 雌二醇 浓度与性早熟的关系

吴嘉敏, 姜新耀

(上海水产大学渔业学院, 上海 200090)

摘要:中华绒螯蟹的性腺发育与血淋巴钙离子浓度相关。性早熟雌性扣蟹(一秋龄)血淋巴钙离子浓度为 $21.25 \pm 11.89 \text{ mmol L}^{-1}$, 明显高于正常发育的 $13.70 \pm 1.17 \text{ mmol L}^{-1}$; 雄性扣蟹(一秋龄)则相反, 性早熟扣蟹血淋巴钙离子浓度为 $16.33 \pm 1.38 \text{ mmol L}^{-1}$, 低于正常发育的 $20.13 \pm 2.37 \text{ mmol L}^{-1}$ 。二秋龄雄性成蟹的血淋巴钙离子指标与性早熟雄性扣蟹相当, 无显著差异。随着个体的生长发育, 雌性中华绒螯蟹血淋巴 17 - E₂ 浓度逐步提高, 正常发育扣蟹为 $0.15 \pm 0.05 \text{ pg mL}^{-1}$, 性早熟扣蟹为 $0.59 \pm 0.15 \text{ ng mL}^{-1}$, 二秋龄成蟹为 $2.31 \pm 1.08 \text{ pg mL}^{-1}$ 。

关键词:中华绒螯蟹; 性早熟; 钙离子; 17 - 雌二醇

中图分类号: S961.2

文献标识码: A

The relationships between Ca^{2+} , 17 -estradiol levels in the hemolymph and precociousness of *Eriocheir sinensis*

WU Jia-min, JIANG Xin-yao

(Fisheries College, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract: The gonadal development of Chinese mitten-handed crab (*Eriocheir sinensis*) is correlative with the Ca^{2+} level in the hemolymph. For the one autumn Chinese mitten-handed crab (so called buttony crab), the hemolymph Ca^{2+} level of the precocious female buttony crab is much higher than that of the normal female buttony crab ($21.25 \pm 11.89 \text{ mmol L}^{-1}$ for the former and $13.70 \pm 1.17 \text{ mmol L}^{-1}$ for the latter). On the contrary, the hemolymph Ca^{2+} level of the precocious male buttony crab is only $16.33 \pm 1.38 \text{ mmol L}^{-1}$, which is lower than that of $20.13 \pm 2.37 \text{ mmol L}^{-1}$ of the normal male buttony crab. The Ca^{2+} level in the hemolymph of male adult crab (two autumn crab) is almost the same as that of the male precocious buttony crab. With the growing and maturing, the hemolymph 17 -estradiol (17 -E₂) concentration of the female crab rises gradually, $0.15 \pm 0.05 \text{ ng mL}^{-1}$ for the normal female buttony crab, $0.59 \pm 0.15 \text{ ng mL}^{-1}$ for the precocious female buttony crab and $2.31 \pm 1.08 \text{ ng mL}^{-1}$ for the female adult crab (two autumn crab), respectively.

Key words: *Eriocheir sinensis*; precociousness; Ca^{2+} ; 17 - estradiol

中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*), 俗称河蟹, 在我国分布广泛, 是一种深受消费者欢迎的淡水甲壳类水产品。20 世纪 90 年代以来, 河蟹苗种来源基本摆脱了对天然资源的依赖, 并出现了人工蟹苗(种)供过

收稿日期: 2000-10-26

基金项目: 上海市农委“九五”重点攻关资助项目(97 第 6-01 号)

第一作者: 吴嘉敏(1961 -), 男, 上海市人, 硕士, 副教授, 从事水产动物繁殖学研究。Tel : 021-65710296, E-mail : jmwu @shfu.edu.cn

于求的局面。充足的苗种来源促进了河蟹的大规模养殖生产,同时也带来了一系列的问题。一秋龄河蟹(亦称蟹种或扣蟹)性早熟是目前河蟹养殖生产上的难题之一。有报道指出,河蟹的性腺出现初级卵母细胞或初级精母细胞即为性早熟的标志^[1]。性早熟的河蟹蜕壳频率降低,生长停滞,在第二年的成蟹养殖过程中死亡率很高。因此,性早熟的扣蟹通常不具有养殖的价值。

对河蟹性早熟的研究目前多集中于营养、水温和盐度方面^[2-4]。钙离子作为一种无机营养元素,在河蟹的生长发育过程中起着重要的作用。河蟹卵母细胞生长必须依赖蛋白质、脂类和碳水化合物等营养物质,这些物质经过机体的转化成为卵黄蛋白原(Vitellogenin)最终被卵母细胞吸收^[5]。在此过程中,甲壳类血淋巴中的无机盐离子如钙离子和性激素等都对卵黄蛋白原的产生和吸收起着重要的调节作用^[6-8]。河蟹通过蜕壳以求得机体的生长,钙离子则是蜕壳的物质基础;河蟹性成熟年龄和性腺的发育主要是基于营养物质的积累,但血淋巴 17-雌二醇(17-E₂)浓度对河蟹性腺的发育也有内在的联系^[9]。鉴于钙离子和 17-E₂对河蟹的生长和性成熟等生命活动有重要的生理作用,因而对钙离子和 17-E₂的研究,有利于揭示河蟹性早熟的内在规律,为控制河蟹性早熟的生产实践提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料及其处理

从 4 口扣蟹培育池塘随机捕出经 5 个月培育的扣蟹 200 余只,从中挑选出性腺正常发育和明显性早熟的扣蟹,抽取血淋巴,测定钙离子含量和 17-E₂浓度。另从成蟹养殖池捕出 50 余只雌雄成蟹(二秋龄),作与扣蟹相同的采样处理。

1.2 血淋巴 17-雌二醇浓度的测定

1.2.1 样品制备

用微量注射器从河蟹的步足基节关节处抽取血淋巴,置于 20 倍样品体积的甲醇中抽提,4℃条件下过夜,3000r·min⁻¹离心 10min,倒出上清液,沉淀再用同法抽提离心一次,合并二次上清液,于 60~70℃水浴下吹干,用 1mL 明胶磷酸缓冲液 GPBS (pH 7.2~7.5)溶解,分装后,置 -20℃低温保存待测。

1.2.2 测定方法

采用放射免疫测定法(RIA),方法灵敏度为 4pg·ml⁻¹。药盒购自中美合资天津九鼎医学生物工程有限公司。

1.3 血淋巴钙离子测定

1.3.1 样品处理

用微量注射器从河蟹的步足基节关节处抽取血淋巴,分装后置于 -20℃低温冰箱保存待测。

1.3.2 测定方法

采用邻-甲酚酞络合酮法。用瑞士 COABS 全自动生化分析仪测定。

2 结果

2.1 雌性扣蟹血淋巴中的钙离子含量和 17-E₂浓度

试验表明,钙离子在河蟹性腺发育过程中具有一定的作用。17-E₂在性腺发育过程中也呈规律性变化。表 1 示钙离子和 17-E₂浓度在正常发育和性早熟扣蟹体内的变动情况。

从表 1 中可以看出,正常发育扣蟹血淋巴钙离子浓度为 13.70 ± 1.17 mmol·L⁻¹,而性早熟扣蟹则要高得多,达 21.25 ± 1.89 mmol·L⁻¹,差异非常显著(P < 0.01)。性早熟扣蟹血淋巴 17-E₂浓度维持一个相对高的水平,比正常发育的扣蟹将近高 4 倍。

表 1 正常发育和性早熟雌性扣蟹血淋巴钙离子含量和血淋巴 17 -E₂ 浓度
Tab. 1 The Ca²⁺ level and the 17 -E₂ concentration in the hemolymph of the female buttony crab and precocious buttony crab

	体重(g)		血淋巴钙离子(mmol·L ⁻¹)		血淋巴 17 - E ₂ (ng·mL ⁻¹)	
	正常	性早熟	正常	性早熟	正常	性早熟
均值 ±SD	3.46 ±0.71	31.65 ±2.36	13.70 ±1.17	21.5 ±11.89	0.15 ±0.05	0.59 ±0.15
N	22	14	22	12	10	12

注:SD 为标准差;N 为样本数。

2.2 雄性扣蟹血淋巴的钙离子浓度

正常发育和性早熟雄性扣蟹血淋巴钙离子浓度分别是 20.13 ±2.73 mmol L⁻¹ 和 16.33 ±1.38 mmol L⁻¹, 差异达到了极显著水平 (P < 0.01) (表 2)。

表 2 正常发育和性早熟雄性扣蟹血淋巴钙离子浓度
Tab. 2 The Ca²⁺ level in the hemolymph of the male buttony crab and precocious buttony crab

	体重(g)		血淋巴钙离子(mmol L ⁻¹)	
	正常	性早熟	正常	性早熟
均值 ±SD	3.65 ±0.49	43.69 ±4.93	20.13 ±2.37	16.33 ±1.38
N	14	14	9	9

注:SD 为标准差;N 为样本数。

2.3 二秋龄雌蟹血淋巴钙离子含量和血淋巴 17 -E₂ 浓度

血淋巴钙离子浓度一秋龄早熟雌蟹和二秋龄成蟹之间无显著差别 (P > 0.05); 性早熟的一秋龄雌蟹和二秋龄成蟹血淋巴 17 -E₂ 浓度差别很大, 前者为 0.59 ±0.15 ng · mL⁻¹, 后者为 2.31 ±1.08 ng · mL⁻¹, 差异十分显著 (P < 0.01) (表 1 和表 3)。

2.4 二秋龄雄性成蟹血淋巴钙离子含量

综合表 2 和表 4 分析结果, 表明二秋龄雄蟹血淋巴钙离子浓度与一秋龄性早熟的雄蟹都比较接近, 均无显著差异 (P > 0.05)。

表 3 二秋龄雌蟹血淋巴钙离子含量和血淋巴 17 -E₂ 浓度
Tab. 3 The Ca²⁺ level and the 17 -E₂ concentration in the hemolymph of the female adult crab two autumn crab

	体重(g)	血淋巴钙离子(mmol · mL ⁻¹)	血淋巴 17 -E ₂ (ng · mL ⁻¹)
均值 ±SD	66.42 ±10.06	19.71 ±7.1	2.31 ±1.08
N	12	12	8

注:SD 为标准差;N 为样本数。

表 4 二秋龄雄蟹血淋巴钙离子含量
Tab. 4 The Ca²⁺ level in the hemolymph of the male adult crab two autumn crab

	体重(g)	血淋巴钙离子(mmol · mL ⁻¹)
均值 ±SD	81.31 ±7.55	16.48 ±1.62
N	11	11

注:SD 为标准差;N 为样本数。

3 讨论

矿物质对甲壳类生长发育方面的研究并不多^[10], 有关这方面的报道也仅限于饲料内矿物质含量对一些甲壳类的生长影响^[11]。对某些无机元素包括钙离子在生理代谢方面所起作用的研究同样也很少, 但类似的问题在鱼类上的研究则相对较多^[12,13]。对硬骨鱼类虹鳟 (*Lebistes reticulatus*) 的研究发现, 在卵巢发育过程中, 由于雌激素的刺激, 鱼体内钙离子浓度快速提高, 以满足卵黄蛋白原合成的生理需求。从理论上讲, 河蟹的蜕壳生长必须依赖钙离子, 因此钙离子对于甲壳类来言具有特殊的生理意义。

从本研究所获得的资料可知, 正常发育的雌性扣蟹血淋巴钙离子浓度明显低于性早熟雌性扣蟹 (表 1), 伴随这种差异的另一项指标是血淋巴 17 - E₂ 浓度, 性早熟的扣蟹 17 - E₂ 浓度达到 (0.59 ±0.15) ng

mL^{-1} ,显著高于正常发育扣蟹的(0.15 ± 0.05) ng mL^{-1} 。这一现象意味着血淋巴钙离子浓度与卵巢发育有着一定的内在联系,钙离子对卵巢发育有促进作用。至于在此过程中性早熟扣蟹 17-E_2 的提高,是因为高钙离子浓度的作用还是由于性腺发育所致或是由于河蟹体内钙离子积累到一定程度,引发血淋巴 17-E_2 浓度提高,从而启动了卵巢的发育等等,都是值得探讨的问题。一般而言,性激素主要起源于性腺,对于卵巢而言,是卵母细胞的滤泡细胞。从本研究的资料看,虽然性早熟的雌性扣蟹和二秋龄的雌性成蟹的血淋巴钙离子含量和 17-E_2 浓度都明显高于正常发育的扣蟹(表 1,表 3),但仍缺乏足够的证据证明血淋巴钙离子的升高是由 17-E_2 的刺激所引发。如果扣蟹血淋巴钙离子浓度的升高是因为雌激素的刺激,则和鱼类的情况相同^[14]。鱼类血液钙离子增加,可以促进卵黄蛋白原的合成,因为卵黄蛋白原是一种结合钙的蛋白质^[13,14]。已经查明,性早熟的雌性扣蟹血淋巴总蛋白浓度比正常发育的低,与血淋巴钙离子的含量变化恰好相反^[15]。这种现象可解释为,性早熟的扣蟹需消耗更多的卵黄蛋白原,用于卵母细胞的生长发育,造成血淋巴总蛋白水平下降。

雄蟹的情况就不同。就血淋巴钙离子而言,性早熟扣蟹明显低于正常发育的扣蟹(表 2),且和二秋龄的成蟹相当(表 4)。这可能雄蟹不需要大量的钙离子参与卵黄蛋白原合成,供卵母细胞的生长发育,钙离子主要在机体的生长方面起作用,进而推测钙离子对雄性河蟹的生理意义主要在于促进生长,与性腺发育关系不大。这种推断与实际情况也相符,正常发育的扣蟹生长快,增重率大,相对性早熟的扣蟹需更多的钙,故血淋巴保持了较高的钙离子水平,以保持生理上的平衡。

综上所述,可以认为,钙离子在参与河蟹的个体生长和性腺发育方面起着相当大的作用,钙离子可以促进河蟹的生长和性腺发育。这对扣蟹培育的实际生产有一定的指导意义。目前扣蟹人工养殖普遍存在的问题之一是性早熟率高,严重影响着第二年大规格成蟹生产,其原因很大程度上与水环境或饲料中钙离子含量过高有关。生石灰清塘,投喂高钙含量的饲料,都可能是扣蟹性早熟的引发因素。天然水域扣蟹相对性早熟率低,除了营养相对贫乏和水温相对比池塘低以外,环境和饵料中的钙离子含量低也可能是一个重要原因。因此,在人工培育扣蟹生产中,可以考虑少用或不用生石灰清塘和少用高钙含量的饲料。成蟹养殖则另当别论,因为钙离子毕竟是河蟹正常生长必不可少的无机营养元素。

参考文献:

- [1] 李晨虹,王成辉,李思发.中华绒螯蟹性早熟的早期判别[J].水产科技情报,1998,25(2):73-76.
- [2] 何正侃,印骏,朱雅珠.密度、营养与河蟹蟹种生长及性早熟之间的关系[J].水产科技情报,1999,26(2):73-96.
- [3] 柳志会,孙福祥.中华绒螯蟹池塘养殖性早熟产生原因的初步分析与其预防[J].海水养殖,1992,(1-2):66-69.
- [4] 徐兴川,朱正东.中华绒螯蟹性成熟蟹种的形成、危害、识别及预防的探讨[J].淡水渔业,1994,(6):3-6.
- [5] Harrison K E. The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustaceans: a review[J]. J Shellfish Res, 1990, 9(1):1-28.
- [6] Vogt G, Storch V, Quinito E T, et al. Midgut gland as monitor organ for the nutritional value of diets in *Penaeus monodon* (Decapoda) [J]. Aquac, 1985, 48:1-12.
- [7] Paulus J E, Laufer H. Vitellogenocytes in the hepatopancreas of *Carcinus* and *Libinia emarginata* (Decapoda, Brachyura) [J]. Int J Invert Reprod Dev, 1987, 11:29-44.
- [8] Quinito E T, Hara A, Yamauchi K, et al. Identification and characterization of vitellin in a hermaphrodite shrimp, *Pandalus kessleri* [J]. Comp Biochem Physiol, 1989, 94B(3):445-451.
- [9] 姜仁良,谭玉钧,吴嘉敏,等.中华绒螯蟹血淋巴中 20-羟基蜕皮酮、 17-E_2 和睾酮含量的变动[J].水产学报,1992,16(2):101-106.
- [10] Read G H L, Caulton M S. Changes in mass and chemical composition during the molt cycle and ovarian development in immature and mature *Penaeus indicus* Milne Edwards [J]. Comp Biochem Physiol, 1980, 66A:431-437.
- [11] Spaargaren D H. Presence and significance of lithium in the brown shrimp, *Crangon crangon* [J]. Comp Biochem Physiol, 1988, 91A(3):457-461.
- [12] Oguri M, Takada N. Serum calcium and magnesium levels of goldfish, with special reference to the gonadal maturation [J]. Bull Jap Soci Sci Fish, 1967, 33:161-166.
- [13] Flett P A, Leatherland J F. Dose-related effects of 17-E_2 on liver weight, plasma E_2 , protein, calcium and thyroid hormone levels, and measurement of the binding of thyroid hormones to vitellogenin in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Reichidson [J]. J Fish Biol, 1989, 34:515-527.
- [14] Budde M L. The effect of parathyroid extract upon the teleost fish, *Lebistes reticulatus* [J]. Growth, 1958, 22:73-92.
- [15] 吴嘉敏,姜新耀.中华绒螯蟹血淋巴和肝胰腺的总蛋白含量与性早熟的关系[J].水产学报,2000,24(4):306-311.