

doi: 10.7541/2013.34

长江口中华绒螯蟹放流亲蟹对环境的生理适应

曹 侦^{1,2} 冯广朋¹ 庄 平^{1,2} 王 慧¹ 王瑞芳^{1,3} 章龙珍¹

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 农业部东海与远洋渔业资源开发利用重点实验室, 上海 200090;
2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306; 3. 华东师范大学生命科学学院, 上海 200062)

摘要: 按回捕日期取样测定长江口中华绒螯蟹亲蟹标志放流前后血清与肝胰腺的生理指标, 初步研究了放流亲蟹对长江口环境的生理适应过程。结果表明, 在放流后 6d, 亲蟹肝胰腺超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性以及血清甘油三酯(TG)和血蓝蛋白含量均降低, SOD、CAT 和 TG 在放流后 9d 达到较低水平, 其中 SOD 活性和 TG 含量较放流前显著降低($P < 0.05$); 肝胰腺酸性磷酸酶(ACP)以及血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、总蛋白质(TP)、白蛋白(ALB)、总胆固醇(TC)和肌酐(CREA)水平在放流后总体呈现先升高后降低的趋势; 在放流后 79d, 肝胰腺 SOD、CAT、ACP 与血清 ALP、ALT、AST 活性均恢复至放流前水平($P > 0.05$), 而血清 TP、血蓝蛋白、ALB、TC、TG、CREA 含量较放流前均显著降低($P < 0.05$)。综合各项指标表明, 中华绒螯蟹亲蟹在放流后 6d 内出现免疫力下降、代谢增强等反应, 放流 22d 后亲蟹各项机能逐步恢复, 并在 70d 后接近或达到放流前水平。建议今后放流前对亲蟹进行环境适应性驯化, 以便提高亲蟹增殖放流效果。

关键词: 中华绒螯蟹; 放流; 肝胰腺; 血清; 代谢

中图分类号: Q142 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2013)01-0034-08

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)在我国分布广泛, 北到辽宁, 南至福建, 在沿海各省通海河流中几乎均有分布, 但群体自然分布以长江中下游为主^[1]。20世纪 70—90 年代, 由于过度捕捞、生境破坏等原因, 长江口中华绒螯蟹资源急剧衰退^[2]。水生动物增殖放流对野生种群破坏后资源的恢复具有重要的意义, 也是目前国内外的主要修复措施^[3, 4]。到目前为止, 在长江口放流中华绒螯蟹亲蟹已进行多次, 对资源的恢复起到了重要的作用^[5-7]。

标志放流在渔业资源保护和科研中应用广泛, 目前主要集中于水生生物的洄游、分布、生长等方面的研究^[8-12]。金刚用标志重捕法估算了湖北大冶保安湖一围栏湖汉中二龄河蟹的种群数量^[10]; 刘永昌通过标志放流研究了渤海对虾的洄游、分布和中心渔场的位置等^[12]; 吴祖杰等探讨了浙江沿海标志放流的中国对虾的移动、分布规律及生长、成活和

产卵等情况。目前, 有关放流物种对环境适应能力的研究报道主要集中于放流物种的生长状况^[13], 而关于放流物种在放流后对环境的生理适应性研究报道较少。本研究以长江口中华绒螯蟹放流亲蟹为对象, 测定了放流前后血清蛋白、脂类、碱性磷酸酶、转氨酶和肌酐水平, 以及肝胰腺中抗氧化酶和酸性磷酸酶的活性, 旨在探讨其放流后对环境的生理适应过程, 为提高中华绒螯蟹的增殖放流效果提供参考依据, 并为其他水生生物的增殖放流效果评估提供理论借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料来源与血清采集

实验用蟹来源于 2010 年 12 月长江口(上海宝杨码头)增殖放流的中华绒螯蟹亲蟹。放流亲蟹为人工繁育与养殖的中华绒螯蟹, 共 3 万只, 雌雄比例为

收稿日期: 2011-12-12; 修订日期: 2012-11-01

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(东海水产研究所 2011M08); 国家公益性行业(农业)科研专项(200903048-07); 上海市长江口青草沙水库邻近水域生态修复专项资助

作者简介: 曹侦(1986—), 男, 山东泰安人; 硕士研究生; 主要从事河口生态学研究。E-mail: evercz@126.com

通信作者: 庄平, E-mail: pzhuang@online.sh.cn

3 1, 生长环境为露天土池塘, 水草覆盖率在 50% 以上。其中 5000 只标志, 标志方法为在亲蟹右边蟹足上套上专用套环并在其甲壳背面下方贴上防伪标签。放流亲蟹通过丝网回捕, 网目大小为 10 cm, 网高 1.5 m。每天回捕放流亲蟹的时间根据当天落潮的时间而定, 落潮将要结束的时候拉起网具。每次拉网的时候记录亲蟹总数、标志蟹数量和水文(水温、盐度、pH 等)等数据。对每次回捕到的标志亲蟹均详细记录形态学数据(体重、壳长、壳宽等)并取样, 当每次回捕亲蟹的数量小于 20 只时全部取样, 如多于 20 只则随机取 20 只亲蟹样本。

将亲蟹用冰麻醉 15—20min 后, 取出擦干体表水分, 快速测量其体质量、壳长和壳宽。然后用一次性注射器于蟹第三步足基部血窦处抽取血淋巴 2 mL, 在 4℃、3000 r/min 的条件下离心 20min, 取上层血清存于 Eppendorf 离心管中, 存放于-20℃冰箱中, 用于各项血液指标的测定。然后在装满碎冰的冰盘上快速解剖亲蟹, 取其肝胰腺存于 Eppendorf 离心管中, 保存于-80℃冰箱中备用。

为尽量减少长江口复杂环境因素变化对放流亲蟹生理生化等指标的干扰, 实验选取回捕位置相对比较集中(31°12.776'N—31°10.570'N, 121°49.200'E—121°50.800'E)、回捕数量较多的同一区域不同时间内回捕到的标志蟹的样品进行各项指标测定, 共 77 只(表 1), 按回捕日期距放流时间(d)分组, 将放流前的中华绒螯蟹组记为 0d。各组蟹的回捕位置、样本量、规格及水文情况(表 1)。

1.2 测定指标及其测定方法

用深圳迈瑞 MINDRAY BS-200 全自动生化分析仪测定血清中总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、碱性磷

酸酶(ALP)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、肌酐(CREA)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)的活性或含量。先将欲测的指标定标校准, 然后按照生化分析仪操作说明和配套试剂盒测试流程进行测定, 其中 TP、ALB、TC、TG 采用终点法, ALP、ALT、AST 采用动力学法, CREA 采用固定时间法。

血清中血蓝蛋白含量的测定参照 Chen, *et al.* [14], 通过 UNICO UV-2802S 紫外分光光度计测得, 血蓝蛋白含量(mmol/L)=(A×R)/(ε×S×P), 式中: A 为分光光度计测得的吸光度值; R 为反应液的总体积(μL); ε 为消光系数; S 为待测样品的体积(μL); P 为分光光度计中光穿透长度(cm)。

肝胰腺中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、酸性磷酸酶(ACP)的活性采用南京建成生物工程研究所试剂盒测定, 严格按照对应试剂盒中的操作流程进行测定。

1.3 统计分析

实验结果均用平均值±标准差(Mean±SE)表示, 采用 SPSS18.0 进行数据处理, 处理时对各指标数据进行方差齐性检验, 若具有方差齐性, 则按照单因素方差分析(ANOVA), LSD 检验法进行组间数值多重比较; 若不具有方差齐性, 则按照单因素方差分析(ANOVA), Dunnett's T3 检验法进行组间均值多重比较。 $P < 0.05$ 表示差异显著, $P > 0.05$ 表示差异不显著。

2 结果

2.1 抗氧化酶、磷酸酶和转氨酶的变化

中华绒螯蟹亲蟹肝胰腺中 SOD 和 CAT 的活性在放流后均呈现先降低后升高的趋势, 且均在放流

表 1 实验用中华绒螯蟹亲蟹
Tab. 1 Chinese mitten crab for experiment

时间 Time (d)	捕捞位置 Capture position	样本量(只) Sample	体重 Weight (g)	壳长 Length (mm)	壳宽 Width (mm)	水温 T (°C)	盐度 Sal (‰)	溶氧 DO (%)	pH
0		20	104.35±19.78	54.76±2.83	59.75±2.97	9.18	0	91.5	6.78
6	N 31°11.193'; E 121° 51.565'	8	113.26±22.44	54.00±3.55	62.13±3.40	8.7	8.89	96.2	7.63
9	N 31°11.721'; E 121° 51.800'	5	126.90±10.50	58.60±2.07	65.00±2.92	6.04	8.65	96.4	7.29
13	N 31°11.762'; E 121° 51.079'	6	109.80±46.85	56.79±4.62	61.64±7.34	6.11	8.74	99.3	7.53
22	N 31°10.570'; E 121° 50.500'	10	109.11±19.61	57.46±1.94	61.85±3.81	6.46	8.03	96.0	7.61
70	N 31°11.644'; E 121° 50.922'	18	114.79±21.23	56.63±2.93	64.01±3.61	7.24	9.65	95.4	7.58
79	N 31°11.006'; E 121° 49.200'	10	110.48±23.72	54.50±4.26	61.58±4.88	11.12	9.02	93.1	7.01

后 9d 活性最低, 其中, 肝胰腺中 SOD 的活性在放流后 9d 较放流前显著降低 ($P < 0.05$) (表 2)。放流后 70d 及 79d 肝胰腺 SOD 的活性较放流前显著升高 ($P < 0.05$), 而 CAT 活性放流前后变化不显著 ($P > 0.05$)。

放流亲蟹肝胰腺中 ACP 的活性在放流后出现升高的趋势, 到 6d ACP 活性较高, 但与放流前相比差异不显著 ($P > 0.05$), 而后开始降低 (表 2)。在放流后 13d 降到最低并显著低于放流前 ($P < 0.05$), 而后又开始升高, 在 22d 达到放流前水平。放流后 70d 到 79d 有下降趋势, 但均与放流前差异不显著 ($P > 0.05$)。

在亲蟹血清中 ALT、AST 和 ALP 的活性在放流后的变化趋势总体一致, 在放流后 9d 均达到最高值且显著高于放流前 ($P < 0.05$), 而后开始下降 (表 3)。放流后 79d, 血清中三者活性基本恢复至放流前水平 ($P > 0.05$)。

表 2 放流后不同时间中华绒螯蟹肝胰腺中抗氧化酶和磷酸酶的活性

Tab. 2 The activities of antioxidant enzymes and phosphatase in hepatopancreas of *E. sinensis* at different times after releasing

时间 Time (d)	超氧化物歧化酶 SOD (U/mg prot)	过氧化氢酶 CAT (U/mg prot)	酸性磷酸酶 ACP (U/g prot)
0	16.29±6.90 ^{ad}	0.17±0.08 ^a	77.36±26.50 ^{ab}
6	10.95±2.91 ^{ab}	0.15±0.10 ^a	98.10±9.81 ^a
9	5.36±1.43 ^b	0.11±0.03 ^a	93.46±11.66 ^{ab}
13	6.53±4.53 ^{ab}	0.15±0.08 ^a	42.89±6.44 ^c
22	11.97±5.16 ^{abc}	0.19±0.08 ^a	74.22±30.74 ^{abc}
70	22.26±9.98 ^{cd}	0.19±0.06 ^a	78.46±12.50 ^{ab}
79	25.54±7.36 ^d	0.20±0.09 ^a	62.93±21.17 ^{bc}

注: 同一列中无相同字母上标的数值之间差异显著 ($P < 0.05$); 下同

Notes: Data without same superscript in the same column were significantly different from each other ($P < 0.05$); the same bellow

表 4 放流后不同时间中华绒螯蟹血清中蛋白质及代谢产物和肌酐的含量

Tab. 4 The activities of protein and metabolic product in serum of *E. sinensis* at different times after releasing

时间 Time (d)	总蛋白 TP (g/L)	白蛋白 ALB (g/L)	血蓝蛋白 Hemocyanin	胆固醇 TC (mmol/L)	甘油三酯 TG (mmol/L)	肌酐 CREA ($\mu\text{mol/L}$)
0	82.61±8.85 ^a	6.27±0.93 ^a	0.68±0.09 ^a	0.67±0.11 ^a	0.19±0.03 ^a	29.89±1.91 ^{ac}
6	85.13±16.56 ^a	6.82±1.72 ^a	0.57±0.15 ^{bc}	0.87±0.19 ^b	0.15±0.03 ^b	35.93±7.69 ^{abc}
9	82.53±5.37 ^{ac}	6.64±0.91 ^a	0.66±0.07 ^{ab}	0.73±0.11 ^{ab}	0.13±0.04 ^{bc}	33.56±2.07 ^{ab}
13	77.37±14.08 ^{ac}	9.44±1.64 ^b	0.53±0.09 ^{bc}	0.62±0.15 ^{ac}	0.19±0.02 ^a	35.92±1.3 ^b
22	72.18±10.64 ^c	6.73±0.93 ^a	0.53±0.11 ^{bc}	0.64±0.11 ^{ac}	0.18±0.04 ^a	31.01±4.69 ^{abc}
70	61.64±13.98 ^d	5.48±0.86 ^c	0.50±0.10 ^c	0.55±0.17 ^c	0.11±0.03 ^c	29.34±4.31 ^{ac}
79	59.57±11.74 ^d	5.09±0.70 ^c	0.53±0.13 ^c	0.54±0.14 ^c	0.11±0.03 ^c	26.82±3.05 ^c

表 3 放流后不同时间中华绒螯蟹血清中磷酸酶和转氨酶的活性
Tab. 3 The activities of phosphatase and transferases in serum of *E. sinensis* at different times after releasing

时间 Time (d)	碱性磷酸酶 ALP (U/L)	谷丙转氨酶 ALT (U/L)	谷草转氨酶 AST (U/L)
0	5.90±3.09 ^a	479.48±149.90 ^a	645.24±100.89 ^a
6	7.32±4.32 ^{ab}	860.73±180.63 ^b	1322.23±151.26 ^{bc}
9	15.55±2.97 ^b	1030.80±59.14 ^b	1400.79±77.43 ^b
13	11.08±3.01 ^{ab}	593.76±222.47 ^{ac}	1010.19±39.70 ^d
22	9.03±6.95 ^{ab}	499.41±161.10 ^{ac}	953.01±160.10 ^{de}
70	9.02±2.94 ^{ab}	639.32±247.59 ^c	1086±268.91 ^{cd}
79	5.37±4.04 ^a	431.16±145.48 ^a	759.07±67.97 ^{ac}

2.2 蛋白质、脂类和肌酐的变化

在亲蟹血清中 TP 的含量呈先升高后降低趋势, 在 6d 达到最大值, 而后下降, 22d 以后 TP 含量显著低于放流前 ($P < 0.05$) (表 4)。在血清中 ALB 的含量在放流后总体呈现先升后降的趋势, 放流后 13d 左右其含量最高, 且与放流前差异显著 ($P < 0.05$), 而后下降, 放流后 70d 左右血清中 ALB 的含量较放流前显著降低 ($P < 0.05$)。血蓝蛋白的含量呈波动性变化, 放流后血蓝蛋白出现明显下降 ($P < 0.05$), 9d 恢复至放流前水平, 13d 后血清血蓝蛋白含量趋于稳定并显著低于放流前含量 ($P < 0.05$)。

在放流中华绒螯蟹血清中 TC 的含量大体上也呈现先升后降的趋势, 放流后 6d TC 含量显著升高 ($P < 0.05$), 9d 开始下降, 70d 以后雄蟹血清中的 TC 含量较放流前显著降低 ($P < 0.05$) (表 4)。在血清中 TG 的含量在放流后开始下降, 放流后 9d 左右 TG 含量最低且较 0d 差异显著 ($P < 0.05$), 13d 和 22d 基本恢复至 0d 的水平 ($P > 0.05$), 到 70d 左右最终趋于稳定, 但放流前显著降低 ($P < 0.05$)。

在亲蟹血清中 CREA 含量在放流后呈现波动变

化, 放流后 13d 其含量较放流前显著升高($P < 0.05$), 在 70d 和 79d 亲蟹血清中 CREA 含量均较放流前差异不显著($P > 0.05$)(表 4)。

3 讨论

3.1 中华绒螯蟹亲蟹放流后抗氧化能力变化

SOD 和 CAT 是生物体内的两种抗氧化的主要酶类, 它们可以相互配合清除生物体内的活性氧自由基。SOD 可以阻止氧自由基对细胞的损害、修复受损细胞并能通过反应将氧自由基转化成过氧化氢, 而 CAT 可以将同样对机体有害的过氧化氢分解成对生物体无害的水和氧。因此 SOD 和 CAT 常被用作判断生物体非特异性免疫的能力的指标^[15-17]。

实验发现, 在中华绒螯蟹亲蟹肝胰腺中 SOD 和 CAT 活性在放流后的 9d 内持续降低, 13d 后出现升高趋势, 并在 22d 恢复至放流前水平, 这可能说明中华绒螯蟹亲蟹的非特异性免疫能力在放流后降低, 在 22d 左右恢复至放流前水平。放流后 70d 和 79d 亲蟹的 SOD 和 CAT 的活性表明放流亲蟹的非特异性免疫能力较放流前恢复并加强。从捕获放流亲蟹位置的水文信息可以得出, 亲蟹 SOD 和 CAT 的这种变化应该跟环境, 胁迫有主要关系。

环境胁迫能够促使生物体细胞内的线粒体、微粒体以及胞浆的酶系统与非酶系统反应, 产生活性氧和氧自由基, 从而打破生物体内的活性氧代谢平衡, 使生物体面临活性氧伤害^[18]。洪美玲等^[19]研究发现中华绒螯蟹受温度胁迫 1d 后血淋巴中 SOD 和 CAT 活力出现不同程度下降; 陈宇锋等^[20]研究发现青蟹肝胰腺中 SOD 活动随盐度胁迫时间的延长出现先降后升趋势; 还有研究发现机体新陈代谢速度加快会使机体自身抗氧化系统受到影响, 从而产生大量的活性氧^[11]。在实验中中华绒螯蟹亲蟹肝胰腺 SOD 和 CAT 活性在放流后出现降低趋势, 应该是亲蟹在向咸淡水交汇处洄游过程中受到温度^[21, 22]、盐度等环境因子的胁迫和蟹体通过加快自身新陈代谢来减少应激共同作用的结果。中华绒螯蟹亲蟹在放流 9d 后肝胰腺中 SOD 活性最低, 这与陈宇锋等^[20]发现的青蟹经盐度应激 3d 后肝胰腺中 SOD 活性最低的结果相似。

3.2 中华绒螯蟹亲蟹放流后血清磷酸酶、氨基转移酶的变化

ALP 和 ACP 是甲壳动物体内两种重要的磷酸

酶, 它们在机体内能够直接参与磷酸基团的转移和代谢, 加速机体内物质的摄取和转运, 并能形成水解酶体系, 破坏和消除入侵机体的异物, 因此对维持虾、蟹类的生存和生长具有重要的意义^[23-26]。研究发现中华绒螯蟹亲蟹血清 ALP 和肝胰腺 ACP 活性在放流后出现升高, 13d 后开始下降, 其中 ACP 活性在 22d 基本恢复至放流前水平, 而 ALP 活性在 79d 恢复至放流前水平。这可能是由于蟹进入新环境后, 必须通过加速物质的摄取和转运来提高自身的代谢速度, 减缓环境对自身的应激, 而随着蟹对新环境的适应, 蟹血清中 ALP 和肝胰腺中 ACP 活性也慢慢下降。在放流后 13d, 蟹肝胰腺中的 ACP 较放流前显著降低, 推测这与 ACP 是巨噬细胞溶酶体的标志酶有关^[24], ACP 活性较放流前降低反映此时亲蟹免疫力有所下降, 这跟 SOD 和 CAT 活性变化反映出来的机体的抗氧化能力、免疫力下降的结果一致。研究表明中华绒螯蟹放流亲蟹在放流后体内磷酸基团的转移和代谢增强, 破坏和清除入侵异物的能力升高, 而基本恢复至放流前水平可能需要 22d 左右, 其中亲蟹血清 ALP 活性要比肝胰腺中 ACP 活性恢复得慢。

ALT 和 AST 是两种重要的氨基转移酶, 主要存在于肝脏和心肌细胞中, 在血清中浓度较低。当机体肝细胞或某些组织受损害时, 血清中的这两种酶的活性就会升高^[27, 28]。研究发现中华绒螯蟹亲蟹在放流后血清中 ALT 和 AST 活性升高, 9d 后两者的活性最高, 放流 22d 后 ALT 活性恢复至放流前水平, 而 AST 活性在 79d 恢复至放流前水平。初步推测这可能是亲蟹由于受到环境应激导致组织受损, 而随着亲蟹不断对环境的适应, 自身受损的组织逐步恢复。本研究表明中华绒螯蟹亲蟹在放流后蟹体肝细胞或其他组织受损, 在放流后 9d 可能受损最严重, 22d 左右亲蟹肝细胞或其他组织逐渐恢复健康状况, 蟹体血清中 ALT 的恢复速度比 AST 快。

3.3 中华绒螯蟹亲蟹放流后血清蛋白的变化

血蓝蛋白是生物体内的一种多功能蛋白, 不仅具有输氧、储存能量、渗透压调节、蜕皮过程调节、能量储存、金属离子转运等功能^[29, 30], 而且血蓝蛋白还具有酚氧化酶活性, 具有抗菌功能^[31, 32]。实验发现中华绒螯蟹血清中血蓝蛋白含量在放流后降低, 9d 后有所升高, 13d 降低并逐渐趋于稳定。有研究表明, 在较高盐度的环境中血蓝蛋白可以裂解为自由

氨基酸来维持血淋巴渗透压平衡^[30], 在实验中中华绒螯蟹亲蟹在放流后血蓝蛋白含量降低应该是亲蟹逐渐往咸淡水处洄游的结果。在 10℃ 条件下, 中华绒螯蟹亲蟹进入咸水 2—3d 后便进入发情阶段^[33], 血蓝蛋白含量的升高可以满足蟹体活动和交配时对耗氧量的需要^[34], 亲蟹在放流后 9d 血蓝蛋白含量升高, 应该跟亲蟹发情有关。

ALB 具有调节血浆胶体渗透压以及运输等功能。实验发现中华绒螯蟹亲蟹血清 ALB 含量在放流后出现升高, 13d 含量最高而后开始下降。初步认为中华绒螯蟹亲蟹血清 ALB 含量在放流后升高是亲蟹通过自身调节来减少应激反应的结果, 一方面蟹体调节自身血浆胶体渗透压, 另一方面蟹体通过加速物质的摄取和转运来提高自身的代谢速度导致的。而放流 70d 后 ALB 含量显著低于放流前水平, 具体原因还有待进一步探讨。

血清 TP 不仅是一种重要的营养物质, 还具有运输、凝血、免疫以及调节血浆胶体渗透压等作用^[35], 对蟹类的健康、营养、疾病的判断具有重要意义。实验发现中华绒螯蟹亲蟹血清 TP 含量升高, 而后逐渐下降并在 22d 后显著低于放流前水平。王顺昌等^[34]研究表明, 中华绒螯蟹血清中 TP 含量受盐度刺激影响较大, 在蟹体刚入咸水时有上升趋势。在本实验中亲蟹在放流后 TP 含量升高, 推测可能是亲蟹往咸淡水洄游过程中受盐度刺激的结果。亲蟹血清 TP 含量在放流后 13d 下降并显著低于放流前水平, 可能是 TP 大量分解为自由氨基酸参与渗透压调节的结果, 也可能是受到血清中血蓝蛋白和 ALB 含量降低的影响所致。

3.4 中华绒螯蟹亲蟹放流后血清肌酐与脂类的变化

CREA 是酸性肌酸的降解产物, 在机体生理状态正常时一般含量相对恒定, 其含量的升高常被作为排泄器官受损和排泄功能受到破坏的判断依据^[36, 37]。在甲壳动物中, 主要的排泄器官为触角腺和鳃^[37]。本研究发​​现亲蟹血清 CREA 含量在放流后 6d 升高, 22d 降低, 到 70d 左右基本恢复至放流前水平, 表明中华绒螯蟹亲蟹放流后触角腺或鳃可能受损, 亲蟹的排泄功能受阻, 22d 后亲蟹受损器官和排泄功能逐步恢复至正常。

血清中 TC 和 TG 含量能够反映机体脂类代谢的变化。脂类是中华绒螯蟹标准状况下最主要的能源物质^[38], 脂类物质含量的变化常被作为甲壳动物受

到胁迫时的一种效应^[39]。例如, 对虾在受到胁迫时主要通过脂肪代谢来满足自身的能量需求^[40, 41]。实验发现中华绒螯蟹亲蟹血清 TG 含量在放流后呈现先降后升再降的波动变化, TC 含量则呈先升后降的变化。分析认为亲蟹血清中 TG 含量在放流后下降, 可能是由于亲蟹放流后通过脂肪分解获取所需的能量来应对环境胁迫(主要是盐度和温度)的结果。有研究发现, 当机体通过脂类提供所需能量时, 脂酶活性和机体内游离脂肪酸含量升高, 血液中 TC 含量降低^[42, 43]。在本实验中亲蟹在放流后通过分解脂肪获取能量时, 血清 TC 含量却出现升高, 具体原因还有待进一步研究。

由于长江口环境的复杂性, 本实验选取回捕位置较集中的放流亲蟹为实验对象, 而且受到回捕亲蟹样本量的限制, 所得结果仅能初步反映长江口中华绒螯蟹放流亲蟹对环境的生理适应状况, 而较大范围全面的生理适应性还需要进行系统试验进一步阐明。

4 结论

本研究发现, 中华绒螯蟹亲蟹在放流后向长江口咸淡水处洄游, 蟹体出现非特异性免疫下降、代谢增强等反应, 在放流后 9d 亲蟹免疫力最低、物质代谢均受到影响, 放流后 22d 亲蟹的各项机能逐步恢复, 并均在 70d 接近或达到放流前水平, 表明此时放流亲蟹基本适应了长江口的环境, 同时也表明放流亲蟹对长江口环境的生理适应可能需要 22d, 这可为今后长江口中华绒螯蟹亲蟹放流与生理适应评估提供理论参考。为提高增殖放流效果, 建议在放流前对亲蟹进行适宜的营养强化及环境适应性驯化。

参考文献:

- [1] Xu X C. The discussion on the problem of keeping the character of *Eriocheir sinensis* [J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 1991, 18(1): 17—19 [徐兴川. 关于中华绒螯蟹品质保持问题的探讨. 水产科技情报, 1991, 18(1): 17—19]
- [2] Dai X Q. Thinking on the development of crab aquaculture in Shanghai [J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 1998, 25(4): 147—149 [戴祥庆. 上海地区河蟹养殖业的发展与思考. 水产科技情报, 1998, 25(4): 147—149]
- [3] Cheng J Y, Jiang Y Z. Marine stock enhancement: Review and prospect [J]. *Journal of Fishery Science of China*, 2010, 17(3): 610—617 [程家骅, 姜亚洲. 海洋生物资源增殖放

- 流回顾与展望. 中国水产科学, 2010, 17(3): 610—617]
- [4] Pan X W, Yang L L, Ji W W, *et al.* Development of research on reproduction and releasing [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2010, (4): 236—240 [潘绪伟, 杨林林, 纪炜炜, 等. 增殖放流技术研究进展. 江苏农业科学, 2010, (4): 236—240]
- [5] Chen Y Q, Shi L Y, Quan W M. Yangtze River estuary ecosystem restoration, releasing and assessment [J]. *Fishery Modernization*, 2007, 34(2): 36—40 [陈亚瞿, 施利燕, 全为民. 长江口生态修复工程底栖动物群落的增殖放流及效果评估. 渔业现代化, 2007, 34(2): 36—40]
- [6] Che B, Zhang X G. Economic analysis of *Eriocheir sinensis* reproduction and releasing [J]. *Fisheries Economy Research*, 2005, (2): 24—25 [车斌, 张相国. 中华绒螯蟹增殖放流的渔业生物经济学分析. 渔业经济研究, 2005, (2): 24—25]
- [7] Chen X H, Zhu Q S, Yan W H, *et al.* Chinese Mitten-handed crab's resource current situation and countermeasure for protection in the Jiangsu section of the Yangtze River [J]. *Journal of Aquaculture*, 2007, 28(2): 8—10 [陈校辉, 朱清顺, 王维辉, 等. 长江江苏段中华绒螯蟹资源现状及保护对策初探. 水产养殖, 2007, 28(2): 8—10]
- [8] Zhou J, Li Y Q, Zhang H P, *et al.* Follow-up survey and impact assessment of Chinese prawn reproduction and releasing [J]. *Hebei Fisheries*, 2006, (7): 27—30 [周军, 李怡群, 张海鹏, 等. 中国对虾增殖放流跟踪调查与效果评估. 河北渔业, 2006, (7): 27—30]
- [9] Shen X Q, Zhou Y D. Fishery resources reproduction and releasing and impact assessment in Yangtze River estuary and Hangzhou Bay [J]. *Fishery Modernization*, 2007, 34(4): 54—57 [沈新强, 周永东. 长江口、杭州湾海域渔业资源增殖放流与效果评估. 渔业现代化, 2007, 34(4): 54—57]
- [10] Jin G. The population number of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*, estimated from mark-recapture experiment [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1999, 23(2): 194—196 [金刚. 用标志重捕法估算湖泊二龄河蟹种群数量. 水生生物学报, 1999, 23(2): 194—196]
- [11] Xue H F, Lü G R, Sun D J. Experiments on tagging of Chinese prawn *penaeus orientalis* and its rate of recovery in Liaodong Bay [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1988, 12(4): 333—337 [薛洪法, 吕桂荣, 孙迪杰. 辽东湾中国对虾放流及其增殖效果的研究. 水产学报, 1988, 12(4): 333—337]
- [12] Liu Y C. Studies on migration and distribution of *penaeus prawn* in Bohai Sea [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1986, 10(2): 125—135 [刘永昌. 渤海对虾洄游和分布的研究. 水产学报, 1986, 10(2): 125—135]
- [13] Liu X W. Possibility of rebuild *Acipenser sinensis* population: benthic halobios survey and releasing experiment [D]. Thesis for Doctor of Science. Huazhong Agricultural University. Hubei. 2009 [刘向伟. 重建长江上游中华鲟种群的可行性: 底栖动物调查及放流实验. 华中农业大学. 湖北. 2009]
- [14] Chen J C, Cheng S Y. Hemolymph oxygen content, oxyhemocyanin, protein levels and ammonia excretion in the shrimp *penaeus monodon* exposed to ambient nitrite [J]. *Journal of Comparative Physiology*, 1995, 164(7): 530—535
- [15] Kong X H, Wang G Z, Ai C X, *et al.* Comparative study on total antioxidative capability and SOD activity in different organs and tissues of mud crab *scylla serrate* [J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 2003, 22(4): 469—474 [孔祥会, 王桂忠, 艾春香, 等. 锯缘青蟹不同器官组织中总抗氧化能力和 SOD 活性的比较研究. 台湾海峡, 2003, 22(4): 469—474]
- [16] Song L S, Ji Y B, Cai Z H, *et al.* The immunochemical variation of mitten hand crab *Eriocheir sinensis* after the increment of temperature [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2004, 35(1): 74—77 [宋林生, 季延宾, 蔡中华, 等. 温度骤升对中华绒螯蟹集中免疫化学指标的影响. 海洋与湖沼, 2004, 35(1): 74—77]
- [17] Chen X R, Zhang W B, Mai K S, *et al.* Effect of dietary glycyrrhizin on growth, immunity of sea cucumber and its resistance against *vibrio splendidus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2010, 34(4): 732—738 [陈效儒, 张文兵, 麦康森, 等. 饲料中添加甘草酸对刺参生长、免疫及抗病力的影响. 水生生物学报, 2010, 34(4): 732—738]
- [18] Winston G W. Oxidants and antioxidants in aquatic animals [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology C*, 1991, 100(1—2): 173—176
- [19] Hong M L, Chen L Q, Gu S Z, *et al.* Effect of temperature change on immunochemical indexes of *Eriocheir sinensis* [J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2007, 13(6): 818—822 [洪美玲, 陈立侨, 顾顺樟, 等. 不同温度胁迫方式对中华绒螯蟹免疫化学指标的影响. 应用与环境生物学报, 2007, 13(6): 818—822]
- [20] Chen Y F, Ai C X, Lin Q W, *et al.* Effect of salinity stress on the activities of phenoloxidase and superoxide dismutase of the serum, tissue and organ of mud crab, *Scylla serrate* [J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 2007, 26(4): 569—575 [陈宇锋, 艾春香, 林琼武, 等. 盐度胁迫对锯缘青蟹血清及组织、器官中 PO 和 SOD 活性的影响. 台湾海峡, 2007, 26(4): 569—575]
- [21] Wu D H, Zheng P P, Zhang Y Y, *et al.* Effect of temperature stress on serum non-specific immune factors in swimming crab *Portunus trituberculatus* [J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2010, 25(4): 370—375 [吴丹华, 郑萍萍, 张玉玉, 等. 温度胁迫对三疣梭子蟹血清中非特异性免疫因子的影响. 大连海洋大学学报, 2010, 25(4): 370—375]
- [22] Sun J H, Xu X, Ji Y B, *et al.* Effects of sudden drop in temperature on activities of antioxidant enzymes of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of Tianjin Agricultural University*, 2008, 15(3): 7—10 [孙金辉, 徐霞, 季延宾, 等. 温度骤降对南美白对虾仔虾抗氧化机能的影响. 天津农学院学报, 2008, 15(3): 7—10]
- [23] Chen Q X, Chen S L, Shi Y, *et al.* Characterization of alkaline phosphatase from *Penaeus penicillatus* [J]. *Journal of Xiamen University (Natural Science)*, 1996, 35(2): 257—261

- [陈清西, 陈素丽, 石艳, 等. 长毛对虾碱性磷酸酶性质. 厦门大学学报(自然科学版), 1996, **35**(2): 257—261]
- [24] Ai C X, Chen L Q, Gao L J, *et al.* Effect of vitamin C on SOD, ALP and ACP activities of Chinese mitten-handed crab, *Eriocheir sinensis* [J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 2002, **21**(4): 431—438 [艾春香, 陈立桥, 高露娇, 等. Vc 对河蟹血清中超氧化物歧化酶及磷酸酶活性的影响. 台湾海峡, 2002, **21**(4): 431—438]
- [25] Sung H H, Chang H J, Her C H, *et al.* Phenoloxidase activity of hemocytes derived from *penaeus monodon* and *Macrobrachium rosenbergii* [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1998, **71**(1): 26—33
- [26] Liu J G, Ai C X, Zeng Y Y, *et al.* Response to pH stress of the activities of ATPase and phosphatase in *Scylla paramamosain* [J]. *Journal of Xiamen University* (Natural Science), 2008, **47**(5): 743—747 [刘建国, 艾春香, 曾媛媛, 等. pH 胁迫下拟穴青蟹体内腺苷三磷酸酶和磷酸酶活性的响应. 厦门大学学报(自然科学版), 2008, **47**(5): 743—747]
- [27] Feng G P, Zhuang P, Zhang L Z, *et al.* Effects of water temperature on metabolic enzyme and antioxidant activities in juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) [J]. *Acta Hydrobiologica sinica*, 2012, **36**(1): 137—142 [冯广朋, 庄平, 章龙珍, 等. 温度对中华鲟幼鱼代谢酶和抗氧化酶活性的影响. 水生生物学报, 2012, **36**(1): 137—142]
- [28] Chen C, Huang F, Shu Q Y, *et al.* Effects of dietary conjugated linoleic acids on growth performance, muscle composition, AST and ALT activities in serum in juveniles Grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2010, **34**(3): 647—651 [陈晨, 黄峰, 舒秋艳, 等. 共轭亚油酸对草鱼生长、肌肉成分、谷草转氨酶及谷丙转氨酶活性的影响. 水生生物学报, 2010, **34**(3): 647—651]
- [29] Jaenicke E, Föill R, Decker H. Spider hemocyanin binds ecdysone and 20-OH-ecdysone [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1999, **274**(26): 34267—34271
- [30] Paul R J, Pirow R. The physiological significance of respiratory proteins in invertebrates [J]. *Zoology*, 1998, **100**(4): 298—306
- [31] Decker H, Jaenicke E. Recent findings on phenoloxidase activity and antimicrobial activity of hemocyanins [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2004, **28**(7—8): 673—687
- [32] Adachi K, Hirata T, Nishioka T, *et al.* Hemocyte components in crustaceans convert hemocyanin into a phenoloxidase-like enzyme [J]. *Comparative Biochemistry Physiology*, 2003, **134**(1): 135—141
- [33] Zhao N G, Du N S, Bao X S. Artificial Propagation and Cultivation of *Eriocheir sinensis* [M]. Hefei: Anhui Technology Press. 1988, 1—30 [赵乃刚, 堵南山, 包祥生. 中华绒螯蟹的人工繁殖与增养殖. 合肥: 安徽科技出版社. 1988, 1—30]
- [34] Wang S C, Xu L. Changes of the total protein and hemocyanin content in serum of *Eriocheir sinensis* in different salinity [J]. *Journal of Huainan Teachers College*, 2003, **5**(19): 24—26 [王顺昌, 许立. 不同盐度下中华绒螯蟹血清总蛋白和血蓝蛋白含量的变化. 淮南师范学院学报, 2003, **5**(19): 24—26]
- [35] Feng G P, Zhuang P, Zhang L Z, *et al.* Effects of electronarcosis on haematological biochemistry of juvenile *Acipenser baerii* [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2011, **30**(2): 229—234 [冯广朋, 庄平, 章龙珍, 等. 电麻醉对西伯利亚鲟幼鱼血液生化指标的影响. 华中农业大学学报, 2011, **30**(2): 229—234]
- [36] Ji D W, Li M Y, Wang T Z. Effects of low temperature stress periods on serum biochemical indexes in Large Yellow Croaker *Pseudosciaena crocea* [J]. *Fisheries Science*, 2009, **28**(1): 1—4 [冀德伟, 李明月, 王天柱. 不同低温胁迫时间对大黄鱼血清生化指标的影响. 水产科学, 2009, **28**(1): 1—4]
- [37] Ding X F, Wang G L. Haemolymph pathological analysis on yellow hemolymph disease of *Scylla serrate* [J]. *Marine Sciences*, 2011, **35**(3): 64—66 [丁小丰, 王国良. 锯缘青蟹 *Scylla serrata* 黄水病血液病理学分析. 海洋科学, 2011, **35**(3): 64—66]
- [38] Wen X B, Chen L Q, Ai C X. Studies on standard metabolism of the parent crab *Eriocheir sinensis* [J]. *Journal of East China Normal University* (Natural Science), 2002, (3): 105—109 [温小波, 陈立桥, 艾春香. 中华绒螯蟹亲蟹的标准代谢研究. 华东师范大学学报(自然科学版), 2002, (3): 105—109]
- [39] Schrif V R, Turner P, Selby L, *et al.* Nutritional status and energy metabolism of crayfish (*Procambarus clarkia* Girard) muscle and hepatopancreas [J]. *Comparative Biochemistry Physiology*, 1987, **88**(3): 383—386
- [40] Racotta I S, & Palacios E. Hemolymph metabolic variables in response to experimental manipulation stress and serotonin injection in *Penaeus vannamei* [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 1998, **29**(3): 351—356
- [41] Racotta I S, Hernández-Herrera R. Metabolic responses of the white shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia [J]. *Comparative Biochemistry Physiology*, 2000, **125**(4): 437—443
- [42] Gluth G, Hanke W. A comparison of physiological changes in carp, *Cyprinus carpio*, induced by several pollutants at sublethal concentrations [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1985, **9**(2): 179—188
- [43] Hussein S Y, El-Nasser M A, Ahmed S M. Comparative studies on the effects of herbicide atrazine on freshwater fish *Oreochromis niloticus* and *Chrysichthys auratus* at Assiut, Egypt [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1996, **57**(3): 503—510

THE PHYSIOLOGY ADAPTION OF THE MATURE *ERIOCHEIR SINENSIS* TO THE ENVIRONMENT OF THE YANGTZE ESTUARY AFTER STOCKING

CAO Zhen^{1,2}, FENG Guang-Peng¹, ZHUANG Ping^{1,2}, WANG Hui¹,
WANG Rui-Fang^{1,3}, and ZHANG Long-Zhen¹

(1. Key Laboratory of East China Sea and Oceanic Fishery Resources Exploitation, Ministry of Agriculture, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China; 2. College of Fisheries and Life, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. College of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract: This study investigated the physiology adaption of the mature *Eriocheir sinensis* to the environment of the Yangtze estuary after stocking by tagging method. Thirty thousand mature crabs were released in the Yangtze estuary on December 23, 2010, and five thousand of which were tagged both by the label tag and the ringlike tag. The fishing tools of the recapture were 1.5-meter-high fishing nets, whose mesh size was 10 cm². The daily fishing time depended on the ebb tide time of the Yangtze estuary, and the fishing mesh was pulled up at the end of the ebb in the daytime. Simultaneously, the data was recorded, which included the number of the crabs and the temperature, the salinity pH and the dissolved oxygen of the water and so on. We tested and recorded some physiological and biochemical indices of the hepatopancreas and the serum of the crabs before and after stocking, which were recaptured in different days. If the crabs' number of the same day and place more than 20, we selected 20 crabs randomly as the samples to test the indices. However, if the number is less than 20, all the crabs were selected. To reduce the impact to the indices, which was made by the complex environments of Yangtze estuary, the samples of the crabs that were captured in the similar area was selected out and divided into 6 groups according the captured day. And set the samples of the carbs before stocking as the control group. There were 7 groups in the experiment, which were 0d, 6d, 9d, 13d, 22d, 70d, and 79d group. Then compared and analyzed the data with SPSS statistic software. The result showed that the indices had some changes after the crabs being released. After having been released for 6 days, the activities of superoxide dismutase (SOD) and the catalase (CAT) in the hepatopancreas and the concentration of the triglyceride (TG) and the hemocyanin in the serum of the mature crabs were reduced on the 6th day after. And then three days later, the SOD, CAT activities and TG concentration of the mature crabs all declined to a very low level. And at this time, the SOD activity and TG concentration of the mature crabs were significantly different with those before stocking ($P<0.05$). After stocking, the activity of acid phosphatase (ACP) in the hepatopancreas and the activities (or concentrations) of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), hemocyanin, total protein (TP), albumin (ALB), total cholesterol (TC), creatinine (CREA) in the serum of the mature crabs all increased first and then declined broadly. On the 79th day after stocking, the SOD, CAT, ACP activities in the hepatopancreas and the ALP, ALT, AST activities in the serum of the mature crabs all resumed to a similar level with those before being released ($P>0.05$). However, the TP, hemocyanin, ALB, TC, TG, CREA activities in the serum were significantly lower than those before stocking ($P<0.05$). Through the research, we found that the mature *Eriocheir sinensis* had series of reaction after stocking, such as the immunity declined and the metabolism enhanced. The metabolism and the function of the organs and tissues of the mature crabs were resumed step by step after having been released for 22 days. And they all reached the similar level with those of the crabs before stocking on the 70th day. The result showed that it may take the mature crabs 22 days to adapt the environment of the Yangtze estuary. In order to strengthen the environmental adaptability and the stock enhancement effect of the *Eriocheir sinensis*, good nutrition diets and related environmental acclimation should be provided.

Key words: *Eriocheir sinensis*; Stocking; Hepatopancreas; Serum; Metabolism