

文章编号: 1000-0615(2017)04-0506-06

DOI: 10.11964/jfc.20151110151

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

马金武^{1,2}, 吕建建^{1,3}, 刘萍^{1,3*}, 高保全^{1,3}, 李健^{1,3}

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

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

3. 青岛海洋科学与技术国家实验室, 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266071)

摘要: 为探明三疣梭子蟹“黄选1号”在盐度胁迫过程中血清生化指标的变化规律及特点, 进而了解盐度适应过程中能量代谢机制, 设置5、10、20和50共4个盐度组, 以自然海水(盐度30)为对照组, 进行三疣梭子蟹“黄选1号”盐度胁迫实验。结果显示, 实验组血清葡萄糖(GLU)、甘油三酯(TG)和总蛋白(TP)含量总体表现为先降低后稳定并显著低于对照组, 对照组血清GLU、TG和TP含量在0~72 h内基本稳定, 在整个盐度胁迫过程中, 实验组血清GLU、TG和TP含量达到基本稳定后表现为与对照组盐度差值越大其含量降幅越大的特点。同一实验组三疣梭子蟹血清GLU和TP含量的最大降幅比TG含量的最大降幅大。各实验组血清GLU含量在0~9 h迅速降低, 而血清TG和TP含量迅速降低发生在0~12 h。血清TP含量的最大降幅在盐度20实验组, 但低于血清GLU含量最大降幅, 在盐度5、10、50实验组内血清TP含量最大降幅高于血清GLU含量最大降幅。实验组血清尿素(UREA)含量总体表现为先升高后稳定并显著高于对照组, 与血清GLU、TG和TP含量的变化趋势相反。盐度5和50实验组血清UREA含量相近, 而血清TP含量则在盐度10与50实验组内相近。研究表明, 三疣梭子蟹血清中GLU、TG和TP均与渗透压调节密切相关, 在盐度适应过程中血清GLU和TP是三疣梭子蟹渗透调节的主要供能物质且血清GLU首先代谢供能, 不同盐度下三疣梭子蟹血清GLU与TP对渗透调节供能占比有所不同, 高盐环境中三疣梭子蟹血清自由氨基酸含量的部分增加可能来源于其他组织。

关键词: 三疣梭子蟹“黄选1号”; 盐度; 胁迫; 血清; 生化指标

中图分类号: Q 592.1; S 968.25

文献标志码: A

三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)隶属于梭子蟹科(Portunidae)、梭子蟹属(*Portunus*), 是我国重要的海洋经济蟹类之一, 在我国南北沿海分布广泛, 其中以黄渤海的产量最大^[1], 在日本、朝鲜等海域亦广泛分布^[2-3], 具有生长快、食用价值高、养殖利润丰厚等特点, 现已成为我国重要的海水捕捞和养殖品种^[4]。

盐度作为一种与水生甲壳动物渗透压调节密切相关的环境因素, 对水生甲壳动物的生长和代谢等具有极其重要的影响^[5]。随着生存水环

境盐度的改变, 无论是广盐性还是狭盐性的水生甲壳动物, 其机体相应渗透调节器官的结构形态、血淋巴渗透压和生理生化指标等均会发生变化以适应环境盐度的改变^[6]。水生甲壳动物主要是通过血淋巴渗透压的调控以适应环境盐度的变化, 研究发现水生甲壳动物渗透压水平主要取决于血淋巴渗透压效应物无机离子和自由氨基酸的含量^[7-10], 除此之外, 血淋巴中的糖类、脂类、蛋白质、氨等物质代谢水平对渗透压同样具有影响。其中血淋巴总蛋白与血淋巴渗透压

收稿日期: 2015-11-10 修回日期: 2016-10-13

资助项目: 国家自然科学基金面上项目(41576147); 国家自然科学基金青年基金(41306177)

通信作者: 刘萍, E-mail: liuping@ysfri.ac.cn

效应物自由氨基酸的变化密切相关^[11-12]。

目前关于水生甲壳动物血淋巴生化指标与盐度适应性方面的研究开展较少, 代表物种有中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)^[13]和中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)^[14]等, 但关于三疣梭子蟹血淋巴代谢生化指标与盐度适应性有关的研究目前未见报道。本实验系统分析了不同盐度急性胁迫对三疣梭子蟹“黄选1号”血清代谢生化指标的影响, 旨在揭示三疣梭子蟹“黄选1号”在急性盐度胁迫适应过程中能量代谢的变化规律, 为三疣梭子蟹“黄选1号”的养殖推广以及海洋甲壳类动物的盐度适应性研究提供一定的理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用三疣梭子蟹为中国水产科学研究院黄海水产研究所选育出的三疣梭子蟹“黄选1号”品种, 实验所用个体为80日龄蟹, 体质量为(30±2.25) g。实验在山东昌邑海丰水产养殖有限责任公司进行, 2014年8月9日正式实验, 实验前于养殖车间自然海水盐度下(盐度30)暂养7 d, 暂养期间连续充气, 每天定时投喂蓝蛤, 换水清污, 在整个暂养期间淘汰活力较差的个体。

1.2 实验方法

急性盐度胁迫实验 实验设置5个盐度梯度: 5、10、20、50(实验组)和自然海水(盐度30, 对照组), 每个盐度均设3个平行组。盐度50的实验水体由自然海水加深层地下卤水混匀调制, 低盐实验水体(5、10、20)由自然海水与自来水混匀调制, 实验前水体均充分曝气。实验于400 cm×400 cm×150 cm的水泥池、水深40 cm的水体中进行, 水体温度22~25 °C。每个实验盐度组90只蟹, 设3个平行, 实验期间的投喂和饲养管理与暂养期相同。

实验样品取样与保存 各盐度实验组分别在实验第3、6、9、12、24、48、72 h时取样, 对照组取0、3、6、9、12、24、48、72 h样品。取样时, 从每个平行组中随机取1只三疣梭子蟹, 抽取心脏处血淋巴1 mL于1.5 mL离心管内, 不加抗凝剂于室温下静置1 h, 置于冰箱内4 °C过夜处理后, 4 °C, 12 000 r/min离心10 min, 用移液器吸取上层血清于新的1.5 mL离心管中, 标记编号后置于液氮中保存。

实验样品血清代谢生化指标测定 使用

HITACHI 7600-210+ISE型全自动生化分析仪测定血清中葡萄糖(GLU)、总蛋白(TP)、甘油三脂(TG)、尿素(UREA)等指标。

统计分析 实验数据均以平均值±标准差(mean±SD)表示, 采用SPSS 19.0软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)和Duncan氏检验, 数据统计的显著性水平定为 $P<0.05$ 。

2 结果

2.1 盐度胁迫下三疣梭子蟹“黄选1号”血清中GLU含量的变化

不同盐度下三疣梭子蟹血清GLU含量除对照组在0~72 h内基本维持稳定外, 各实验组GLU含量总体表现为先降低后稳定并显著低于对照组($P>0.05$)(图1)。实验组GLU含量在0~9 h迅速降低, 其中盐度5实验组较其他实验组降幅最大, GLU含量降至(0.131±0.002)mmol/L。盐度5、10和20实验组GLU含量在0~9 h迅速降低后, 在12 h出现轻微上升趋势, 其中盐度10实验组GLU含量在12 h上升幅度最大, 上升了(0.026±0.001)mmol/L。各实验组在12~72 h维持基本稳定并表现为与对照组盐度差值越大GLU含量降幅越大。盐度5、10、20和50实验组血清GLU含量最大降幅分别为50.71%、43.01%、32.43%和38.55%。

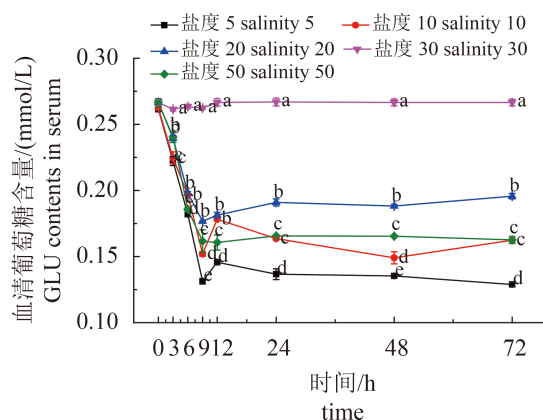


图1 盐度胁迫对血清中葡萄糖含量的影响

不同字母表示同一时间不同盐度下含量差异显著($P<0.05$), 下同

Fig. 1 Effects of salinity stress on GLU contents in serum

Different letters show significant difference at different salinity at the same time ($P<0.05$), the same below

2.2 盐度胁迫下三疣梭子蟹“黄选1号”血清中TG含量的变化

各实验组三疣梭子蟹血清中TG含量与GLU含量表现相似，表现为先降低后稳定趋势，对照组在0~72 h内维持相对稳定。与血清GLU含量变化不同，盐度5实验组血清TG含量在0~24 h内均呈下降趋势，在24~72 h趋于稳定，其他实验组血清TG含量在0~12 h内整体表现为降低趋势，在12~72 h趋于稳定(图2)。各实验组在基本稳定后表现为与对照组盐度差值越大血清TG含量降幅越大，盐度5、10、20和50实验组血清TG含量最大降幅分别为22.62%、16.52%、13.04%和17.72%，血清TG含量未出现类似血清GLU含量在12 h轻微上升的趋势。

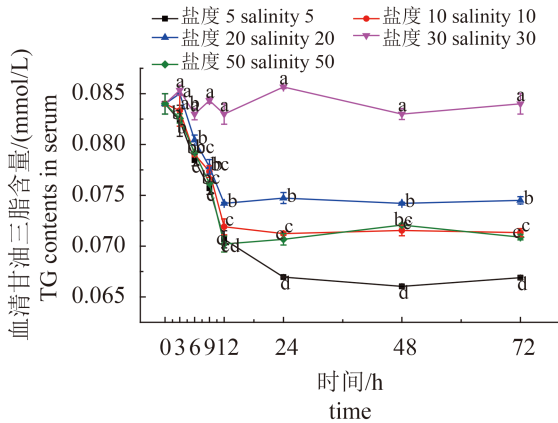


图2 盐度胁迫对血清甘油三酯含量的影响

Fig. 2 Effects of salinity stress on TG contents in serum

2.3 盐度胁迫下三疣梭子蟹“黄选1号”血清中TP及UREA含量的变化

各实验组三疣梭子蟹血清TP含量整体表现为先降低后稳定趋势，在0~12 h内，血清TP含量迅速降低，但与血清GLU和TG含量变化趋势相比，盐度20实验组在0~12 h下降趋势较缓。12~72 h内，各实验组维持相对稳定状态，其中盐度10与50实验组血清TP含量相近，对照实验组血清TP含量在0~72 h内基本维持不变并显著高于各实验组($P>0.05$)。同血清GLU和TG含量下降趋势一样，血清TP含量同样遵循实验组与对照组盐度差越大血清TP含量降幅越大的规律，盐度5、10、20和50实验组血清TP含量最大降幅分别为63.16%、46.31%、16.68%、47.44%(图3)。

各实验组血清UREA含量的变化趋势与血清

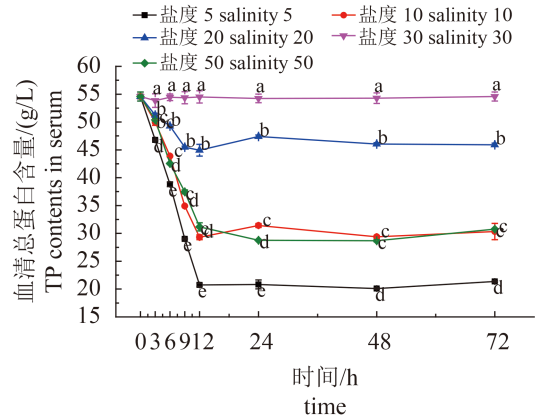


图3 盐度胁迫对血清总蛋白含量的影响

Fig. 3 Effects of salinity stress on TP contents in serum

GLU、TG和TP含量的变化趋势相反，在0~12 h内，各实验组血清UREA含量呈现上升趋势，盐度20实验组较其他实验组上升趋势缓慢。12~24 h内，各实验组血清UREA含量均有一定程度下降，其中盐度5实验组血清UREA含量下降最为显著，由(3.057±0.097) mmol/L下降至(2.481±0.053) mmol/L。在12~72 h期间，除盐度10实验组血清UREA含量有较大幅度波动外，其他实验组血清UREA含量均趋于稳定，其中，盐度5和50实验组血清UREA含量相近(图4)。

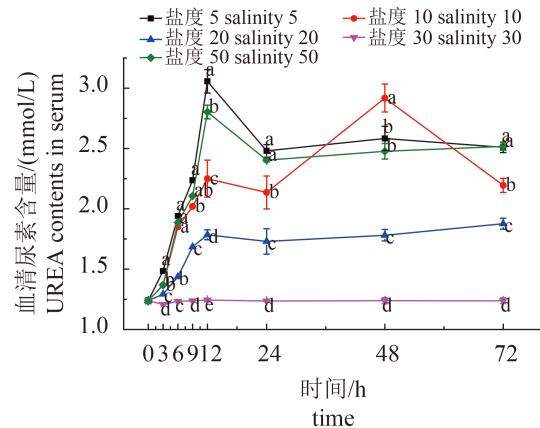


图4 盐度胁迫对血清尿素含量的影响

Fig. 4 Effects of salinity stress on UREA contents in serum

3 讨论

水生甲壳动物的渗透压调节能力主要是通过调节血淋巴中无机离子和自由氨基酸含量实现的，其中起主要作用的是无机离子含量。水

生甲壳动物通过 $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ 等主要离子转运酶进行离子转运调节血淋巴中无机离子含量,血淋巴中糖类、脂类和总蛋白等物质代谢水平会对水生甲壳动物离子转运供能产生影响,进而影响水生甲壳动物的渗透压调节^[15-16]。本研究结果表明,血清中GLU、TG和TP含量整体先降低后趋于稳定,说明三疣梭子蟹血清中GLU、TG和TP均与渗透压调节密切相关,在渗透压调节过程中作为供能物质大量消耗以维持机体渗透压的稳定。

血清中GLU含量在0~9 h快速降低后维持相对稳定,比TG和TP含量下调更快,说明在盐度适应过程中血清GLU率先进行代谢供能,是三疣梭子蟹渗透压调节的首要供能物质。在盐度胁迫的整个过程中,同一实验组三疣梭子蟹血清GLU和TP含量的最大降幅比TG含量的最大降幅大,说明在三疣梭子蟹渗透压调节过程中血清GLU和TP是主要的代谢供能物质。研究还发现,血清TP含量的最大降幅在盐度20实验组低于血清GLU含量最大降幅,在盐度5、10、50实验组内血清TP含量最大降幅高于血清GLU含量最大降幅,表明在渗透压调节过程中,血清TP在盐度5、10和50实验组中起主要作用,血清GLU在盐度20实验组中起主要作用,说明渗透压调节过程中不同盐度水环境下三疣梭子蟹血清GLU与TP代谢供能占比有所不同。

自由氨基酸是重要的血淋巴渗透压效应物,对渗透压调节具有重要作用,但对于水生甲壳动物血淋巴中自由氨基酸来源还存在较多分歧^[6]。血清UREA作为水生甲壳动物体内蛋白质代谢的产物,能反映出蛋白质在水生甲壳动物体内的代谢水平。研究发现,在盐度胁迫过程中各实验组血清中UREA含量在0~12 h内迅速升高,表明此阶段三疣梭子蟹渗透压调节过程中大量消耗蛋白质,这与血清TP含量在0~12 h迅速降低趋势相符。在12~72 h内,盐度10和50实验组的血清TP含量相近,而血清UREA含量在盐度5和50实验组内相近且变化趋势相似,表明盐度50实验组的血清TP代谢水平与盐度10实验组相近,但盐度50实验组的排氨率却高于盐度10实验组并与盐度5实验组相近,说明三疣梭子蟹在高盐环境中,体内自由氨基酸含量增加以维持机体正常代谢渗透压水平,而氨基酸作为主要的代谢底物从而导致了血清UREA含量的升

高。盐度50实验组血清TP含量未表现出与盐度5实验组同样的大幅降低,说明高盐水环境中三疣梭子蟹血清自由氨基酸含量的部分增加可能来源于其他组织。因此,对于开展三疣梭子蟹血淋巴中自由氨基酸含量、来源及血淋巴其他生化指标与盐度胁迫相关的研究十分必要。

参考文献:

- [1] 孙颖民,宋志乐,严瑞深,等.三疣梭子蟹生长的初步研究[J].生态学报,1984,4(1):57-64.
Sun Y M, Song Z L, Yan R S, et al. Preliminary study on the growth of *Portunus trituberculatus*[J]. Acta Ecologica Sinica, 1984, 4(1): 57-64 (in Chinese).
- [2] 李健,刘萍,高保全,等.三疣梭子蟹新品种“黄选1号”的选育[J].渔业科学进展,2013,34(5):51-57.
Li J, Liu P, Gao B Q, et al. The new variety of *Portunus trituberculatus* “Huangxuan No.1”[J]. Progress in Fishery Sciences, 2013, 34(5): 51-57 (in Chinese).
- [3] 于金红,潘鲁青.三疣梭子蟹C-型凝集素的原核表达和活性检测[J].渔业科学进展,2013,34(5):58-63.
Yu J H, Pan L Q. Prokaryotic expression of C-type lectin like-domain protein gene of *Portunus trituberculatus* and activity analysis of recombinant protein[J]. Progress in Fishery Sciences, 2013, 34(5): 58-63 (in Chinese).
- [4] 王冲,姜令绪,王仁杰,等.盐度骤变和渐变对三疣梭子蟹幼蟹发育和摄食的影响[J].水产科学,2010,29(9):510-514.
Wang C, Jiang L X, Wang R J, et al. Effect of abrupt and gradual changes in salinity on development and feeding in juvenile swimming crab (*Portunus trituberculatus*)[J]. Fisheries Science, 2010, 29(9): 510-514 (in Chinese).
- [5] 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 crustacean I. The gill's structure and function and its concerned factors[J]. Donghai Marine Science, 2001, 19(1): 44-51 (in Chinese).
- [6] 潘鲁青,刘泓宇.甲壳动物渗透调节生理学研究进展[J].水产学报,2005,29(1):109-114.
Pan L Q, Liu H Y. Review on the osmoregulation of crustacean[J]. Journal of Fisheries of China, 2005, 29(1): 109-114 (in Chinese).

- [7] 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, 117(2): 239-244.
- [8] Lima A G, McNamara J C, Terra W R. Regulation of hemolymph osmolytes and gill Na^+/K^+ -ATPase activities during acclimation to saline media in the freshwater shrimp *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann, 1836) (Decapoda, Palaemonidae)[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1997, 215(1): 81-91.
- [9] Spaargaren D H. Aspects of the osmotic regulation in the shrimps *Crangon crangon* and *Crangon allmanni*[J]. *Netherlands Journal of Sea Research*, 1971, 5(3): 275-333.
- [10] Dalla Via G J. The effect of salinity on free amino acids in the prawn *Palaemon elegans* (Rathke)[J]. *Archiv Fur Hydrobiologie*, 1989, 115: 125-135.
- [11] Huong D T T, Yang W J, Okuno A, *et al.* Changes in free amino acids in the hemolymph of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* exposed to varying salinities: relationship to osmoregulatory ability[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Molecular & Integrative Physiology*, 2001, 128(2): 317-326.
- [12] Péqueux A. Osmotic regulation in crustaceans[J]. *Journal of Crustacean Biology*, 1995, 15(1): 1-60.
- [13] Chen J C, Jun L L. Responses of osmotic and chloride concentrations of *Penaeus chinensis* Osbeck subadults acclimated to different salinity and temperature levels[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1994, 179(2): 267-278.
- [14] 贾小燕, 庄平, 冯广朋, 等. 中华绒螯蟹雌性亲蟹血淋巴生化指标与盐度的关系[J]. *水产学报*, 2012, 36(1): 91-97.
Jia X Y, Zhuang P, Feng G P, *et al.* The relationship between hemolymph biochemical parameters and salinity in female parent Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(1): 91-97 (in Chinese).
- [15] Engel D W, Ferguson R L, Eggert L D. Respiration rates and ATP concentrations in the excised gills of the blue crab as a function of salinity[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Physiology*, 1975, 52(4): 669-673.
- [16] 王悦如, 李二超, 龙丽娜, 等. 中华绒螯蟹对盐度变化的适应及其渗透压调节的研究进展[J]. *海洋渔业*, 2011, 33(3): 352-360.
Wang Y R, Li E C, Long L N, *et al.* Review on the osmoregulation and adaptation to salinity changes of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*[J]. *Marine Fisheries*, 2011, 33(3): 352-360 (in Chinese).

Effects of salinity stress on serum partial biochemical indicators of “Huangxuan No.1” *Portunus trituberculatus*

MA Jinwu^{1,2}, LÜ Jianjian^{1,3}, LIU Ping^{1,3*}, GAO Baoquan^{1,3}, LI Jian^{1,3}

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

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Function Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071, China)

Abstract: The swimming crab (*Portunus trituberculatus*) is a commercially important marine crab in China. It is distributed in China, Japan and Korea and has the largest production in the Yellow Sea and Bohai Sea. It has the characteristics of fast growth, high edible value, breeding profit, etc. Salinity is closely related with osmoregulation of aquatic crustacean animal. Adaptation of aquatic crustacean animal to the changes of the salinity is mainly controlled by the osmotic pressure of the blood. The osmotic pressure level of the aquatic crustacean animal is mainly determined by the content of the inorganic ions and free amino acids in the blood. In addition, it is also affected by the metabolism of carbohydrate, lipid, protein, ammonia and other substances in the blood. In order to investigate the change regulation and characteristics of serum biochemical indicators of “Huangxuan No.1” *P. trituberculatus* during salinity stress, four salinity gradients (salinity 5, 10, 20, 50) experimental groups and a control group of salinity 30 were set up in the experiment. The samples of the experimental groups were respectively taken at 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 h and the samples of the control group were taken at 0, 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 h. The results showed that the values of serum glucose (GLU), triglyceride (TG) and total protein (TP) of the experimental groups declined firstly and then became stable, and were significantly lower than the control group. The values of serum GLU, TG and TP of the control group were stable during 0–72 h. While the contents of serum GLU, TG and TP of the experimental group were stable, the larger difference of the salinity between experimental and control group, the greater decline of the contents of serum GLU, TG and TP. Maximum decline of serum GLU and TP content was greater than the maximum decline of serum TG content. The values of serum GLU of experimental groups declined quickly during 0–9 h. The values of serum TG and TP declined during 0–12 h. The maximum decline of the value of serum TP was less than the maximum decline of the value of serum GLU in salinity 20 experimental group. The maximum decline of the value of serum TP was greater than the maximum decline of the value of serum GLU in salinity 5, 10, 50 experimental groups. The values of serum urea (UREA) of the experimental groups rose firstly and then became stable, and were significantly higher than the control group. The value of serum UREA of salinity 5 experimental group was near the value of serum UREA of salinity 50 experimental group. However, the values of serum TP of salinity 10 and 50 experimental groups were near each other. It could be concluded that GLU, TP and TG in serum of *P. trituberculatus* were closely related to osmoregulation. Serum GLU and TP of *P. trituberculatus* were main materials for energy supply and the serum GLU supplied energy firstly in the osmoregulation process. Partial content increase of serum free amino acid of *P. trituberculatus* could be derived from other tissues in high salt water environment.

Key words: “Huangxuan No.1” *Portunus trituberculatus*; salinity; stress; serum; biochemical indicators

Corresponding author: LIU Ping. E-mail: liuping@ysfri.ac.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (41576147); National Natural Science Foundation of China (41306177)