

盐度对中华绒螯蟹性早熟生理机制的影响

魏薇, 吴嘉敏, 魏华

(上海水产大学 生命科学与技术学院, 上海 200090)

摘要:于2004年6月至11月在崇明岛中华绒螯蟹养殖基地进行1秋龄中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)的养殖试验,通过荧光免疫二步抗体检测法和原子吸收等方法,测定了1秋龄蟹血淋巴钙离子和雌二醇水平,研究了不同盐度水体中1秋龄中华绒螯蟹性早熟情况及盐度促进中华绒螯蟹性早熟的生理机制。结果表明:(1)随着水体盐度的升高,1秋龄中华绒螯蟹性早熟率上升,成活率则呈下降趋势;(2)水体盐度升高导致1秋龄未发育雌蟹血淋巴中 Ca^{2+} 含量上升($P < 0.05$),但对1秋龄雄蟹作用不显著($P > 0.05$);(3)池塘养殖90 d之后,高盐度水体中1秋龄未发育雌蟹血淋巴中雌二醇水平显著高于低盐度水体1秋龄未成熟雌蟹($P < 0.05$);(4)1秋龄性早熟雌蟹血淋巴中雌二醇含量高达 $(1\,294.00 \pm 595.87) \text{ pg/mL}$,极显著地高于同期的1秋龄未成熟雌蟹($P < 0.01$)。研究表明:水体盐度升高引起的1龄雌蟹血淋巴中雌二醇水平和 Ca^{2+} 含量上升是导致1秋龄雌性中华绒螯蟹性早熟的内在生理原因。[中国水产科学,2007,14(2):275-280]

关键词:中华绒螯蟹;性早熟;盐度;雌二醇; Ca^{2+}

中图分类号:S96

文献标识码:A

文章编号:1005-8737-(2007)02-0275-06

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*),俗称河蟹,在人工养殖条件下当年秋冬季节可达到性成熟,这种蟹称为性早熟蟹,体质量多在15~50 g^[1],当年就加入生殖洄游的降河群体的行列,到第二年7月全部死亡^[2]。因性早熟蟹个体小,达不到食用规格,经济价值低,并且很难从1秋龄幼蟹继续饲养到2秋龄成蟹规格(体质量150 g以上)上市,影响了养殖效益。此外,大量性早熟小型化的中华绒螯蟹的出现势必会造成中华绒螯蟹种质的退化。

蟹性早熟产生的原因是多种多样的,在生产中发现,沿海地区养殖的中华绒螯蟹性早熟率要比在内陆水域养殖的高,并且沿海滩涂较易出现中华绒螯蟹的性早熟现象。有报道指出,随着水体盐度的上升,河蟹性早熟率显著上升,二者呈一定的指数相关关系,当盐度达到10以上时,早熟率超过60%^[3]。但是,这些关于盐度对蟹性早熟作用的研究仅限于现象观察。盐度对性早熟蟹的内在生理作用未见报道。本研究探讨了水体不同盐度对1龄幼蟹性早熟率、成活率以及血淋巴中雌二醇和 Ca^{2+} 含量的影响,以期揭示盐度影响1龄幼蟹性早熟的生理机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 设施 本实验于2004年6月29日至2004年11月19日在崇明岛新河镇瀛生公司养蟹基地室外土池中进行。采用10个规格为3 m×4 m×0.8 m的土池,池内四周先铺设塑料窗纱网,然后再铺上瓦片防止蟹打洞,池与池之间以40 cm高的黑色塑料薄膜分隔防止蟹逃逸。实验期间,池中水位保持在0.5 m左右,每半个月换水1次,半个月换水量约0.1 m³,池内的水量保持在6 t左右(水位0.5 m)。水面布置水花生。

1.1.2 实验动物 实验幼蟹采自崇明瀛生公司育苗土池,为当年大眼幼体生长而成,体质量为0.08~0.38 g/只;各池放养幼蟹1 200只,放养密度约为120只/m³,实验期间各池按生产常规性投喂饵料,日投喂量为蟹湿体质量的3%~5%。使用饵料为南通巴大饲料公司扣蟹饵料。

1.2 实验组盐度梯度及取样方法

1.2.1 盐度梯度 本实验设计盐度为2、4、6、8的4个梯度组,使用8个池塘,每2个池塘水体用粗盐

收稿日期:2006-03-23; 修订日期:2006-10-26.

基金项目:上海市属高校重点研究项目(01HZ01).

作者简介:魏薇(1979-),女,硕士研究生,主要从事甲壳动物内分泌生理研究. E-mail: weiwei_area@sina.com

通讯作者:魏华. Tel: 021-65710525. E-mail: hwei@shfu.edu.cn

(NaCl)调节至同一盐度作为平行组。同时,设2个盐度为0的淡水池塘为对照组。实验用水均使用曝气自来水。各盐度组池塘每次加水或换水后均重新调节盐度至设定值。

1.2.2 取样方法 实验蟹苗在6月29日下塘,整个实验过程分4次取样,取样时间分别是:2004年的8月10日、9月9日、9月27日、11月19日。由于池塘的封闭式养殖阻断了性早熟蟹的洄游通道,因而池塘养殖的中华绒螯蟹幼蟹一旦性腺发育便会爬上岸^[4],本实验中部分性早熟蟹是通过随时捕捉爬上岸的幼蟹获得。

1.3 1秋龄幼蟹性早熟率与成活率统计

性早熟蟹的判断采用生长上常用的外部形态判别法^[1,5-6]。

本实验通过捕捉爬上岸的、历次取样时获得的和最后清塘时获得的性早熟蟹总数进行幼蟹性早熟率的统计。

每次取样时记录取样量,最后一次取样后全部清塘,清点捕获的幼蟹数量,统计各池塘幼蟹成活率。按如下公式计算幼蟹性早熟率和成活率:

性早熟率 = 性早熟幼蟹个数 / 成活的幼蟹个数 $\times 100\%$;

成活率 = 成活的幼蟹个数 / 下塘幼蟹个数 $\times 100\%$;

1.4 血淋巴中 Ca^{2+} 和雌二醇含量的测定

1.4.1 血淋巴中 Ca^{2+} 含量测定 血淋巴样品取自11月19日从塘底捕获的1龄未发育幼蟹,从第三步足基部抽取0.2 mL血淋巴液,立即置于装有0.2 mL ACD抗凝剂^[7]的1.5 mL离心管内,混合均匀,放入4℃冰箱保存备用。使用时摇匀,取0.2 mL血淋巴和ACD抗凝剂的混合样品(其中含有血淋巴液0.1 mL)于玻璃管中,加入0.4 mL浓硝酸(65%~68%),再加入1 mL纯水,加热至溶液澄清,用纯水定容至10 mL(将样品稀释100倍),取定容后的溶液2 mL,稀释至10 mL(又稀释5倍,总共稀释500倍),倒入玻璃管中,用封口膜封口备用。用自动原子吸收光谱仪(GBC932 PLUS,美国)测定样品中的 Ca^{2+} 含量。钙标准储备液购自国家标准物品计量中心上海市计量测试技术研究院, Ca^{2+} 质量浓度是0.100 g/L,含1%硝酸,GBW(E)080632。

1.4.2 血淋巴中雌二醇测定 激素抽提参考蔡生力等^[8]的方法。用微量注射器从中华绒螯蟹的第三

步足基节关节处抽取0.2 mL血淋巴液,置于1.5 mL离心管中,加1 mL乙酸乙酯,混匀,置于4℃冰箱过夜后以3000 r/min离心10 min,吸取上清液,再向沉淀中加1 mL乙酸乙酯重复离心1次,合并2次离心上清液,置于56℃水浴中蒸干,然后加1 mL明胶磷酸缓冲液(GPBS,含0.1%明胶,0.1 mol/L, pH 7.2),涡旋混匀,放置-20℃低温冰箱备用。采用荧光免疫二步抗体检测法,用Beckman Counter公司的Access[®] Immunoassay System(全自动微粒子化学发光免疫分析系统)测定样品中雌二醇的含量。所有试剂和测定工作由上海瑞金医院提供和完成。

1.5 数据处理及统计方法

数据以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{X} \pm \text{SD}$)的形式表示,使用Excel软件作图。差异显著性检验采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 不同盐度下1秋龄幼蟹的性早熟率

图1表示不同盐度的池塘水体中幼蟹的性早熟率。随着水环境中盐度的升高,中华绒螯蟹幼蟹的性早熟率也随之升高。盐度为8的池塘中幼蟹的性早熟率最高,平均达到6.71%;其次是盐度为4的池塘,平均性早熟率是3.58%;盐度为2的池塘性早熟率为2.69%;盐度为0的对照组池塘中幼蟹性早熟率最低,仅为1.52%。水体盐度与幼蟹性早熟率呈线性正相关关系, $R^2 = 0.91$ 。

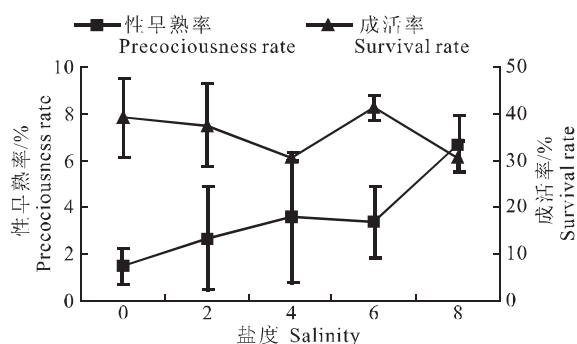


图1 不同盐度下1秋龄幼蟹的性早熟率和成活率

Fig.1 Precociousness and survival rate of juvenile *E. sinensis* cultured under different salinities

2.2 不同盐度下1秋龄幼蟹的成活率

由图1所示,随着池塘水体盐度的升高,幼蟹的成活率呈下降趋势,但二者相关性不显著($R^2 = 0.42$)。成活率最高的是盐度为6的池塘,平均达到

41.29%;其次是对照组池塘,成活率为39.13%;成活率最低的是盐度为4和8的池塘,平均分别为30.46%和30.75%。

2.3 不同盐度下1秋龄未发育雌蟹血淋巴中 Ca^{2+} 含量差异

由表1所示,盐度升高导致1秋龄未发育雌蟹血淋巴中 Ca^{2+} 含量增加,且各组间差异显著($P<0.05$)。盐度为8的池塘中的1秋龄雌蟹血淋巴 Ca^{2+} 含量最高,与盐度为6和2的实验组以及淡水对照组相比均有显著差异($P<0.05$)。对照组池塘中1秋龄雌蟹血淋巴 Ca^{2+} 含量最低,显著低于盐度为8和盐度为6的实验组($P<0.05$),但与盐度为2和盐度为4的实验组相比无显著差异($P>0.05$)。

表1 不同盐度下1秋龄未发育雌蟹血淋巴中的 Ca^{2+} 含量
Tab.1 Hemolymph Ca^{2+} levels of immature female juvenile *E. sinensis* cultured under different salinities

盐度 Salinity	n	$\text{Ca}^{2+} / (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
0	6	471.89 ± 47.30 ^a
2	6	561.26 ± 212.50 ^{ab}
4	7	759.12 ± 300.77 ^{abc}
6	6	570.80 ± 131.98 ^b
8	6	768.99 ± 108.90 ^c

注: 同列数值上标不同表示差异显著 ($P<0.05$)。

Note: values in a same row without a common letter are significantly different ($P<0.05$).

2.4 不同盐度下1秋龄未发育雄蟹血淋巴中 Ca^{2+} 含量差异

雄蟹中的情况与雌蟹有所不同(表2),总体趋

势是随着盐度升高,血淋巴中的 Ca^{2+} 含量高,且各组间差异显著($P<0.05$)。盐度为2的池塘中1秋龄雄蟹血淋巴 Ca^{2+} 含量显著高于对照组($P<0.05$),也显著高于盐度为6的实验组($P<0.05$),但与盐度为4和8的池塘中1秋龄雄蟹血淋巴 Ca^{2+} 含量相比无显著差异($P>0.05$)。

表2 不同盐度下1秋龄未发育雄蟹血淋巴中的 Ca^{2+} 含量
Tab.2 Hemolymph Ca^{2+} levels of immature male juvenile *E. sinensis* cultured under different salinities

水体盐度 Salinity	n	$\text{Ca}^{2+} / (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
0	5	542.74 ± 97.04 ^a
2	5	751.63 ± 92.76 ^b
4	5	725.13 ± 157.09 ^{ab}
6	5	587.72 ± 33.98 ^a
8	5	929.25 ± 276.96 ^{ab}

注: 同列数值上标不同表示差异显著 ($P<0.05$)。

Note: values in a same row without a common letter are significantly different ($P<0.05$).

2.5 不同盐度下1秋龄雌蟹血淋巴中雌二醇含量变化

表3表示不同的盐度水体中1秋龄雌蟹血淋巴中雌二醇含量的变化。由于取样时的1秋龄幼蟹的规格仍较小,大部分都难以抽到血淋巴液,导致各组1秋龄幼蟹的样本较少,因此,采取把盐度为2和盐度为4的池塘中取到的1秋龄雌蟹合并为1组,把盐度为6和盐度为8的池塘中取到的1秋龄雌蟹合并为1组。性早熟组表示从各池塘爬上岸的早熟性状明显的1秋龄性早熟雌蟹。

表3 不同盐度下雌性幼蟹血淋巴中雌二醇含量的变化

Tab.3 Changes of hemolymph estradiol levels of immature and precocious female juvenile

<i>E. sinensis</i> cultured in different salinity ponds		$\bar{X} \pm \text{SD}; \text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$		
组别 Group		8月10日	9月9日	9月27日
对照组池塘中1秋龄未发育雌蟹 Immature female juvenile <i>E. sinensis</i> from two control ponds		197.40 ± 175.47 (n=3)	161.17 ± 21.83 (n=3)	180.75 ± 30.76 ^a (n=5)
盐度为2和4的池塘中1秋龄未发育雌蟹 Immature female juvenile <i>E. sinensis</i> from experimental ponds with salinity 2 and 4		339.75 ± 119.23 (n=4)	213.10 ± 46.14 (n=5)	181.17 ± 12.41 ^a (n=3)
盐度为6和盐度为8的池塘中1秋龄未发育雌蟹 Immature female juvenile <i>E. sinensis</i> in experimental ponds with salinity 6 and 8		279.56 ± 108.36 (n=8)	205.61 ± 77.58 (n=6)	373.50 ± 110.94 ^b (n=4)
各盐度组池塘中1秋龄性早熟雌蟹 Precocious female juvenile <i>E. sinensis</i> from all ponds		No sample	No sample	1 294.00 ± 595.87 ^c (n=6)

注: (1)同列数据后字母不同表示差异显著 ($P<0.05$); (2)n表示取样量。

Note: (1) values with different superscripts in the same row are significantly different ($P<0.05$); (2) "n" indicates the sample number.

由表3可知,水体盐度对1秋龄未发育雌蟹血淋巴中的雌二醇含量有一定影响,取样时间不同其影响程度也不同。6月29日下塘幼蟹,到8月10日及9月9日取样时,各组间雌蟹血淋巴中雌二醇含量无显著差异($P>0.05$)。9月27日第三次取样结果显示盐度为6和盐度为8的池塘中1秋龄雌蟹血淋巴中雌二醇含量平均值显著高于盐度为2和盐度4的池塘中1秋龄雌蟹血淋巴中雌二醇含量平均值以及对照组池塘中的1秋龄雌蟹($P<0.05$)。9月27日同时取到1批从不同盐度的池塘中爬上岸的1秋龄性早熟雌蟹,其血淋巴中的雌二醇含量极显著地高于同期的1秋龄未发育雌蟹($P<0.01$)。

3 讨论

中华绒螯蟹主要在淡水的江河湖泊中生长,在入海口的咸水中繁殖,对盐度变化的适应性较广,是广盐性高渗调节甲壳动物的典型代表^[9]。虽然中华绒螯蟹能在海水中生存,但是盐度能影响其性成熟时间,随着盐度升高,早熟率明显上升^[3]。但是,盐度影响性早熟的机理尚不清楚。

3.1 盐度对1秋龄幼蟹性早熟率及成活率的影响

盐度能促进中华绒螯蟹性早熟,是引起幼蟹性早熟的原因之一^[3]。本研究结果亦证实,随着养殖水体中盐度的升高,1秋龄幼蟹性早熟率也随之升高,两者呈线性正相关关系。

对同期获得的1秋龄性早熟幼蟹和1秋龄未发育幼蟹称重结果显示,性早熟蟹体质量极显著高于同期下塘同时捕获的未发育蟹(结果未显示)。由于中华绒螯蟹属于间歇生长动物^[10],其体质量的增长和体积的增大通过蜕壳来实现,二者体质量的差异说明了性早熟蟹的蜕壳次数要显著多于未发育幼蟹,这表明,盐度影响性早熟可能与中华绒螯蟹的盐水平衡和渗透压调节有关,水体盐度通过缩短幼蟹的蜕壳周期和增加幼蟹的蜕壳次数来加速幼蟹的生长和发育,从而导致1秋龄幼蟹性腺提早发育。王维娜等^[11]发现,提高水体盐度对日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)的生长及体内酯酶(EST)的活性均有促进作用。Fang等^[12]认为,鱼体肠道中的蛋白酶活力随着盐度的不同也会发生变化,同样,幼蟹体内的蛋白酶、酯酶等各种酶的活性可能受到盐度的调节而影响到幼蟹的生长和性腺发育。

盐度升高导致幼蟹的蜕壳间期缩短、蜕皮次数增加,引发性早熟率上升,并且造成较多的幼蟹因蜕

壳不成功而死亡或蜕壳过程中被攻击而死亡,成活率下降。同时,1秋龄幼蟹在环境中盐度上升较大时,通过渗透压的调节来适应新的环境,这也可能导致一部分幼蟹因为无法适应而死亡。

3.2 盐度对1秋龄未发育雌蟹血淋巴中 Ca^{2+} 含量的影响

环境盐度对中华绒螯蟹血淋巴渗透压调节有着重要的作用^[13]。Onken等^[14]的研究证明,中华绒螯蟹的鳃部具有 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活性,主要用于转运各种无机离子,且 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 的活性与其生活的外界盐度有关^[12]。中华绒螯蟹从蜕皮后48 h到96 h,机体可以从环境中直接吸收 Ca^{2+} ^[15]。本研究结果中,盐度较高(8)的池塘水体中,1秋龄雌蟹血淋巴中的 Ca^{2+} 含量显著高于低盐度(4)和淡水(对照组)池塘中的1秋龄雌蟹。这表明,盐度在调节中华绒螯蟹渗透压的同时有利于促进蟹体对水环境中 Ca^{2+} 的吸收。

因为卵黄蛋白源是一种结合钙的蛋白质^[16-17],甲壳类血淋巴中的 Ca^{2+} 含量对卵黄蛋白源的产生和吸收起着重要的调节作用^[18-20]。在中华绒螯蟹1秋龄性早熟雌蟹卵巢发育过程中,卵母细胞需要吸收卵黄蛋白源等营养物质。已有研究证实,1秋龄性早熟雌蟹血淋巴中 Ca^{2+} 含量显著高于1秋龄未发育雌蟹^[21],并且证实中华绒螯蟹的性腺发育与血淋巴中 Ca^{2+} 浓度相关^[22]。因此,1秋龄雌蟹血淋巴中的 Ca^{2+} 含量对其性腺的发育显得尤为重要。

本研究表明,水环境中的盐度有利于蟹体对水中 Ca^{2+} 的吸收,因此推测,盐度对1秋龄雌蟹生长和性早熟影响的途径之一是通过促进雌蟹对水体中 Ca^{2+} 的直接吸收,提供性腺发育时所需要的卵黄蛋白源的结合物质钙,导致1秋龄雌蟹性早熟的发生。

3.3 盐度对1秋龄未发育雄蟹血淋巴中的 Ca^{2+} 含量的影响

盐度对1秋龄雄蟹血淋巴中的 Ca^{2+} 含量影响不如在雌蟹中显著。盐度为4、6和8的池塘中的1秋龄雄蟹血淋巴 Ca^{2+} 含量与对照组相比无显著差异($P>0.05$)。

由于雄蟹不需要大量的 Ca^{2+} 参与合成卵黄蛋白源,供卵母细胞的生长发育,因此 Ca^{2+} 对雄蟹的生理意义主要在于促进生长^[21]。由此可见,盐度对幼雄蟹性早熟的影响在于促进雄蟹从水体中直接吸收 Ca^{2+} ,供给蜕壳的需要,从而加速生长,导致生殖蜕壳提前到来。

3.4 盐度对1秋龄雌蟹血淋巴中雌二醇含量变化的影响

已有研究表明激素参与了甲壳动物的渗透调节^[22-23],但目前还没有关于外界盐度变化导致甲壳动物体内某种激素含量改变的报道。本实验从2004年6月29日幼蟹下塘到9月9日约70 d时间内,先后在8月10日和9月9日2次采样分析,均未发现不同盐度池塘中1秋龄雌蟹血淋巴中雌二醇含量有差异。但在9月27日离幼蟹下塘约90 d时采样分析发现,虽然盐度为6和8的池塘中获得的1秋龄雌蟹的外表性早熟性状尚未表现出来,但其血淋巴雌二醇含量已显著高于盐度为2和4的池塘以及对照组池塘中的1秋龄雌蟹,而在同期从各池塘中获得的外表早熟性状明显的1秋龄性早熟雌蟹中,其血淋巴中雌二醇含量大大超过上述盐度为6和8的池塘中的1秋龄雌蟹;且外表早熟性状明显的1秋龄性早熟雌蟹卵巢细胞已发育至Ⅲ₂期,而未表现出外在早熟性状的1秋龄雌蟹仅在极少量个体中发现了微量发育至Ⅲ₁期的乳白色卵巢(结果尚未发表)。结果表明,盐度导致的中华绒螯蟹性早熟是通过提高体内雌二醇的生理过程而激发,且蟹血淋巴中雌二醇含量的上升与盐度有剂量依存关系。雌二醇含量的提高发生于性早熟外表性状出现以前,这也进一步证实了高盐度下中华绒螯蟹体内雌二醇含量的升高是性早熟的原因之一。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 金刚,李钟杰.一秋龄性成熟中华绒螯蟹的生物学—2.生殖、越冬行为及脱壳的可能性[J].湖泊科学,1999,11(2):172-176.
- [3] 顾晓英,江锦波.盐度对河蟹性早熟影响的初步研究[J].海洋渔业,2002,24(1):22-24.
- [4] 王成辉,李思发,李晨虹,等.池塘放养中华绒螯蟹长江种群与辽河种群性早熟出现差异的观察与分析[J].湖泊科学,2001,13(1):57-62.
- [5] 张德隆,杜晓燕,赵金利,等.河蟹性早熟成因及控制方法的研究[J].淡水渔业,2001,31:36-39.
- [6] 金刚,李钟杰.一秋龄性成熟中华绒螯蟹的生物学—1.外部形态特征及性腺变化[J].湖泊科学,1999,11(1):52-56.
- [7] 蔡武城,李碧羽,李玉民.生化实验技术教程[M].上海:复旦大学出版社,1983:47.
- [8] Cai S, Zhao W. Profile of progesterone and estradiol in hepatopancreas, ovary and hemolymph of shrimp *Penaeus chinensis* during reproduction cycle[J]. J Fish Chin, 2001, 25(4): 304-310.
- [9] Gills R, Pequeux A, Bianchini A. Physiological aspects of NaCl movement in the gills of the euryhaline crab, *Eriocheir sinensis*, acclimated to freshwater[J]. Comp Biochem Physiol, 90A: 201-207.
- [10] 赖伟.中华绒螯蟹的生活习性与生殖洄游[J].养鱼世界,1983,6:23-41.
- [11] 王维娜,王安利,张亦陈,等.盐度和Ca²⁺浓度对日本沼虾同工酶的影响[C]//中国动物科学研究,北京:中国林业出版社,1999:741-743.
- [12] Fang L S, Chiou S F. Effects of salinity on activities of digestive proteases from the tilapia fish, *Oreochromis niloticus* in different culture environments[J]. Comp Biochem Physiol, 1989, 93A: 439-443.
- [13] 吕富.环境因子对中华绒螯蟹渗透调节的影响[D].青岛:中国海洋大学,2002.
- [14] Onken H, Putzenlechner M. A V-ATPase drives active, electrogenic and Na⁺-independent Cl⁻ absorption across the gills of *Eriocheir sinensis*[J]. J Exp Biol, 1995, 198: 767-774.
- [15] 王顺昌,魏亦军,申德林.中华绒螯蟹蜕皮过程中肌肉、肝胰脏和甲壳中钙和磷含量的变动[J].水产学报,2003,27(3):219-224.
- [16] Flett P A, Leatherland J F. Dose-related effects of 17 β -estradiol (E₂) on liver weight, plasma E₂, protein, calcium and thyroid hormone levels, and measurement of the binding of thyroid hormones to vitellogenin in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Reischidson[J]. J Fish Biol, 1989, 34: 515-527.
- [17] Budde M L. The effect of parathyroid extract upon the teleost fish, *Lebistes reticulatus* [J]. Growth, 1958, 22: 73-92.
- [18] 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]. Aquaculture, 1985, 48: 1-12.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] 吴嘉敏,姜新耀.中华绒螯蟹血淋巴钙离子和17 β -雌二醇浓度与性早熟的关系[J].水产学报,2001,25(2):112-115.
- [22] McNamara J C, Salomao L C, Ribeiro E A. Neuroendocrine regulation of osmotic and ionic concentrations in the hemolymph of the freshwater shrimp *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann) (Crustacea, Decapoda) [J]. Gen Comp Endocrinol, 1991, 84(1): 16-26.
- [23] Santos F H, McNamara J C. Neuroendocrine modulation of osmoregulatory parameters in the freshwater shrimp *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann) (Crustacea, Decapoda) [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1996, 206(1-2): 109-120.

Physiological mechanism of precociousness influenced by salinity in juvenile *Eriocheir sinensis*

WEI Wei, WU Jia-min, WEI Hua

(College of Aqua-life Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract: One autumn age of juvenile Chinese mitten-crab, *Eriocheir sinensis*, were cultured in crab culturing ponds from June to November in 2004 to determine salinity effect on their precociousness. Different salinities of 2, 4, 6, 8 was set up. Eight ponds were used and every two ponds had the same salinity. Another two ponds were used as control group with fresh water. 1 200 juvenile crabs with body weight of 0.08~0.38 g were put into these 10 ponds averagely on June 28 in 2004. Immature crabs were sampled from these 10 ponds respectively on August 10, September 9, September 27 and November 19, 2004 while precocious crabs whose sexual gonad had matured after over three months culture were collected at any time. Access[®] Immunoassay System produced by Beckman Counter Company and Atomic Absorption Spectrometer were used to detect the levels of estradiol and Ca^{2+} level in hemolymph. At different salinity level, precociousness rates of juvenile *Eriocheir sinensis* were counted. The results indicated that: (1) with the salinity rising, precociousness rate of juvenile crab increased while survival rate decreased; (2) increasing salinity resulted in rise of Ca^{2+} concentrations in hemolymph of female immature juvenile crab, $(768.99 \pm 108.90) \mu\text{g}/\text{mL}$ for crabs cultured in ponds with salinity 8 and $(570.80 \pm 131.98) \mu\text{g}/\text{mL}$ for those in ponds with salinity 6, while $(471.89 \pm 47.30) \mu\text{g}/\text{mL}$ for those in ponds with fresh water ($P < 0.05$), but failed to exert significant influence on male juvenile crab ($P > 0.05$); (3) after 90 days culturing, estradiol levels in hemolymph of immature female juvenile crab under relatively high salinity [$(373.50 \pm 110.94) \text{pg}/\text{mL}$] were higher than those under relatively low salinity [$(181.17 \pm 12.41) \text{pg}/\text{mL}$] or freshwater [$(180.75 \pm 30.76) \text{pg}/\text{mL}$] ($P < 0.05$); (4) the hemolymph estradiol level of precocious female juvenile crabs reached $(1\,294.00 \pm 595.87) \text{pg}/\text{mL}$, which was much higher than immature female juvenile ones ($P < 0.01$). We concluded that increase of estradiol and Ca^{2+} levels in hemolymph caused by rise of salinity led to precociousness of female juvenile crabs. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14 (2): 275–280]

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

Corresponding author: WEI Hua. E-mail: hwei@shfu.edu.cn