

Effects of Low Salinity Stress on Survival Rate of Juvenile Mud Crab

Zhongwen Jin¹, Yangcai Wang¹, Zhongning Wu²

¹Ningbo Institute of Marine and Fisheries, Ningbo Zhejiang

²Yinzhou Fisheries Technology Service Station, Ningbo Zhejiang

Email: jzhongwen@sina.com

Received: Nov. 5th, 2018; accepted: Nov. 21st, 2018; published: Nov. 28th, 2018

Abstract

In order to explore the adaptability of juvenile mud crabs to salinity, the experiment designed different salinity gradients and observed the survival rate of juvenile mud crabs. The result shows that: The juvenile mud crabs had a strong ability to tolerate low salinity stress in the early stage. The levels of seawater salinity were S23, S18, S13, S10 and S5. The survival rate of juvenile crabs was above 80%, the metamorphosis rate was above 67%, and there was no significant difference between groups ($p > 0.05$). The salinity that juvenile mud crabs adapt extends to the lower limit of 5. The relationship between metamorphosis rate and salinity of juvenile crab accords with the power function curve equation, $y = 0.2309X - 0.5894$ ($R^2 = 0.98$). The semilethal salinity (LS50) of juvenile crab C5 at 12 h, 24 h, 48 h and C4 at 96 h was 0.017, 0.150, 0.173 and 0.236, respectively. The adaptability of mud crabs to salinity was inherited. The adaptability to low salinity was significant difference between the offspring of mud crabs bred from Hainan province and Sanmenwan Zhejiang province ($p < 0.05$), and the breeding crab is more capable of adapting to low salinity environment. Through low salinity domestication, the mud crab can grow in a salinity of 0.2, which can greatly expand the area of mud crab culture.

Keywords

Scylla serrata, Juvenile Mud Crab, Salinity Stress, Survival Rate, Semi Lethal Salinity

低盐度胁迫对拟穴青蟹初期稚蟹成活率的影响

金中文¹, 王扬才¹, 吴仲宁²

¹宁波市海洋与渔业研究院, 浙江 宁波

²宁波市鄞州区渔业技术管理服务站, 浙江 宁波

Email: jzhongwen@sina.com

收稿日期: 2018年11月5日; 录用日期: 2018年11月21日; 发布日期: 2018年11月28日

摘要

实验以拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)初期稚蟹为研究对象,采取盐度骤降和渐降方式,设计不同盐度梯度,观察稚蟹的成活率,旨在探索稚蟹对盐度的适应能力。结果表明:初期稚蟹耐低盐度胁迫的能力强,从自然海水盐度(S23)骤降至18和13,又从13骤降至10和5,均维持在80%以上成活率,变态率在67%以上,组间无显著差异($p > 0.05$),稚蟹适宜盐度范围扩大至下限值5,稚蟹变态成活率与盐度的关系符合幂函数曲线方程, $y = 0.2309X - 0.5894$, ($R^2 = 0.98$)。稚蟹C5的12 h、24 h、48 h和C4的96 h半致死盐度(LS₅₀)分别为0.017、0.150、0.173和0.236。种蟹对盐度适应能力具有遗传性,生活在盐度较高的海南种蟹繁育的稚蟹与三门湾种蟹选育后繁育的子代对盐度的适应能力存在显著差异($p < 0.05$),选育的蟹适应低盐度环境的能力更强。通过低盐度驯化,拟穴青蟹可以在盐度0.20的环境中生长,大大拓展青蟹养殖区域空间。

关键词

拟穴青蟹, 稚蟹, 盐度胁迫, 成活率, 半致死盐度

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

青蟹是重要的海洋经济蟹类和养殖对象[1][2],盐度是影响水生生物生存的重要环境因子。国内外学者有过诸多研究,青蟹为广盐性的海产蟹类,能在咸淡水甚至接近淡水中成长、发育,能在盐度4~55的海水中生存。由于各海区的青蟹所处的海水盐度不同,因而形成的适应能力亦有些差异[1]。王桂忠[3]研究了盐度对青蟹幼体成活率与生长发育的影响,元磊[4]研究了盐度对大眼幼体生长发育,陈建明[5]研究了拟穴青蟹大眼幼体和稚蟹对盐度的适应性,Stickle等[6]研究了盐度对2种青蟹(*Callinectes sapidus*, *C. similis*)生理和行为的影响,乔振国[7]研究了环境因子变化对锯缘青蟹后期幼体及仔蟹变态成活率的影响。但有关文献资料尚未有拟穴青蟹初期稚蟹对低盐度胁迫进行相对系统的研究,以及对低盐度的半致死浓度和生活在不同海区的青蟹耐低盐能力的研究,也无涉及青蟹稚蟹淡化(驯化)方法的研究报道。为此,开展本实验研究旨在为青蟹养殖提供参考和技术依据。

2. 材料与方法

2.1. 实验材料

2017年7~8月,实验在宁波市海洋与渔业研究院科技创新基地生态实验室进行。实验桶分为0.5 m³圆形桶和0.1 m³玻璃水槽两种,每个桶配置1个充气石,连续充气,有气阀调节气量大小,每个桶放置一条附着网绳。实验用稚蟹为自繁的拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)稚蟹,随机选择完整健壮活泼的3日龄稚蟹C1若干。实验用海水采用自然海水(S23)加淡水,海水经过砂滤处理,淡化的海水提前配置完成备用。实验室为自然光照,实验期间水温27℃~28℃。以卤虫无节幼体或冷冻桡足类为饵料,日投喂量以仔蟹能饱食为宜,每天早上换水1次,换水量50%~100%,同时清除残饵和排泄物,并记录死亡、蜕壳等情况。

2.2. 实验方法

2.2.1. 稚蟹耐低盐实验

采取阶梯式方法, 从自然海水盐度 S23 至 S0, 分为三个大组, A; 自然海水(S23)下降至 S5, B; 从 S5 下降至 S0.25, C; 从 S0.2 调至 S0。A 组分为 A-1、A-2, B 组分为 B-1、B-2 和 C 组, A-1 设对照组和实验组, 上一实验最低值组多为对照组, 每组设 3 个平行组, 其他组依次类推。每个梯度实验桶, 预先加淡水配置好盐度, 盐度用哈希多用途水质检测仪测量。每个梯度设多个相应盐度的实验桶, 培育稚蟹作为下一梯度实验用, A-B 的实验桶为 0.5 m³ 圆桶, C 的实验桶为 0.1 m³ 的水槽, A 和 B 组稚蟹 300 ind, C 组稚蟹 50 ind。根据稚蟹变态时间设定每个梯度的实验时间, 见表 1。实验开始时盐度骤降幅度大, 之后, 越接近临界值下降幅度越小, 以尽量减少对稚蟹的应急刺激。

Table 1. Experimental design table

表 1. 实验设计表

	组别	实验时间 h	稚蟹发育期
A	对照组 S23	12	C1
	A-1 S23~18		
	S23~13		
	对照组 S13	48	C3
	A-2 S13~10		
	S10~5		
B	对照组 S5	96	C4
	B-1 S3		
	S3~1		
	对照组 S1	96	C5
	B-2 S0.5		
	S0.25		
C	对照组 S0.2	48	C5
	S0.1		
	S0.0		

2.2.2. 不同品系稚蟹耐盐对比实验

选择海南品系(HN 表示)和选育的“甬渔快优”(YY 表示)进行比较, 实验设计同上。

2.2.3. 稚蟹半致死盐度实验

将 C4 驯化至盐度 S1 后, 放置于 S1、S0.5、S0.3 的实验水槽中, 观察 96 h, 将 C5 驯化至盐度 S0.20 后放入盐度 S0.1 和 S0.0 的实验水槽中, 实验开始后 12 h、24 h、48 h, 记录稚蟹死亡数和变态数。

2.3. 分析统计方法

成活率(%) = (稚蟹存活数/初始稚蟹数) × 100

死亡率(%) = (稚蟹死亡数/初始稚蟹数) × 100

变态成活率(%) = (变态后的稚蟹数/初始稚蟹数) × 100

实验数据运用 SPSS19.0 软件进行统计分析, 成活率、死亡率和变态成活率数据用平均值 ± 标准误差(M ± SD)表示, 采用方差分析(ANOVA)比较实验组别和不同品系稚蟹耐盐能力的差异, p < 0.05 为显著差异, 曲线回归分析成活率与盐度的关系方程, 参照李翠萍[8]驯化式半致死浓度方式和半致死浓度计

算方法计算半数致死量。

3. 实验结果

3.1. 低盐度胁迫对初期稚蟹死亡率的影响

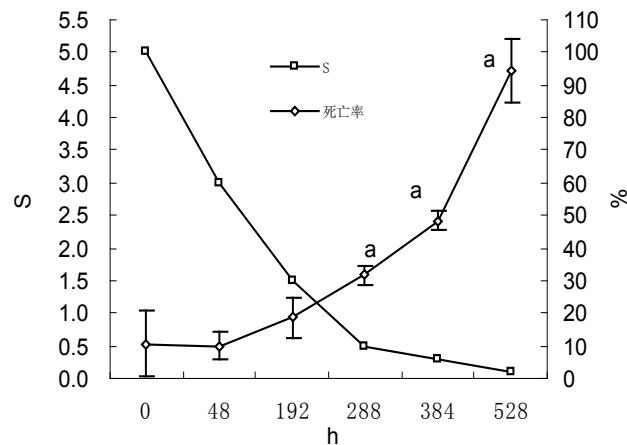
稚蟹 C1 从自然海水(S23)骤降至 S18 和 S13, 降幅分别为 5 和 10, 从表 2 中所示, 两组实验 24 h 时, C1 的成活率均在 80%以上。盐度从 S13 骤降至 S10 和 S5, 降幅分别为 3 和 8, 48 h 稚蟹 C3 的成活率 94%以上, 各组间没有显著差异($p > 0.05$)。说明稚蟹(C1, C3)盐度 S23 至 S5 均为适宜范围。

Table 2. Statistics on survival rate of juvenile mud crab

表 2. 稚蟹成活率统计表

组别	降幅	成活率(%)	F 值	p 值
S23~S18	5	83.44 ± 11.02	2.79E-07	1.00
S23~S13	10	77.99 ± 12.66	0.371	0.58
S13~S10	3	94.73 ± 4.58	2.76	0.17
S10~S5	8	96.42 ± 6.20	0.62	0.48

盐度从 S5 逐渐下行至 S1.5 时, 死亡率并没有显著下降, 但从 S1 和 S0.5、S0.3 实验组, 死亡率显著提升($p < 0.05$)。随着盐度从 S0.3 继续下行, 死亡率呈现上升趋势, S0.1 时, C5 的死亡率达到 94.3%, 见图 1。



备注: a 表示显著差异。

Figure 1. Comparison of juvenile crab mortality at different salinity

图 1. 盐度与稚蟹死亡率的关系

稚蟹死亡率与盐度的关系, 极其显著($p < 0.01$), 符合反函数曲线方程(INV)、对数曲线方程(LOG)和幂函数曲线方程(POW), 相关指数 R^2 以幂函数曲线方程(POW)最优, 曲线拟合程度最紧密, 见表 3, 图 2。

3.2. 低盐度胁迫对初期稚蟹变态率的影响

稚蟹 C3 在盐度 S5~S3 时, 变态率分别为(68.00 ± 0.00)%和(67.00 ± 0.05)%, 各组间无显著差异($p > 0.05$), 该盐度条件下稚蟹可以正常生长蜕壳。盐度 S3~S1.5 时, 稚蟹 C4 的变态率出现差异, S0.25~S0.5 盐度越低反而比 S1 的变态率高, S0.5 的变态率(23.30 ± 0.20)%, S1 的变态率(6.70 ± 0.06)%, 盐度低促进蜕皮加快, 出现应急反应蜕壳现象。见图 3。

Table 3. Regression equation of salinity to mortality of juvenile mud crab
表 3. 盐度对稚蟹死亡率回归方程

	回归方程	相关系数 R ²	自由度 df	F 值	p 值
POW	$y = 0.2309x - 0.5894$	0.980	4	192.02	0.000
INV	$y = 0.1216 + (0.0851/x)$	0.979	4	182.12	0.000
LOG	$y = 0.3194 - 0.2027(\ln x)$	0.871	4	26.95	0.007

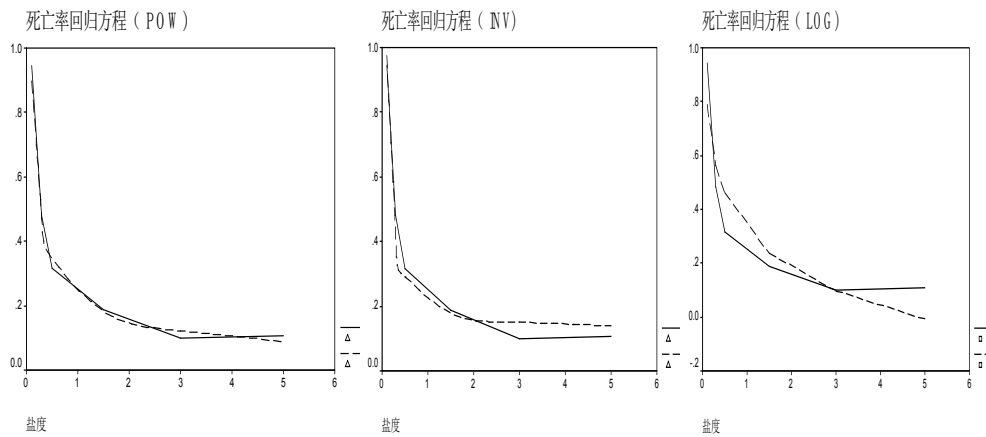
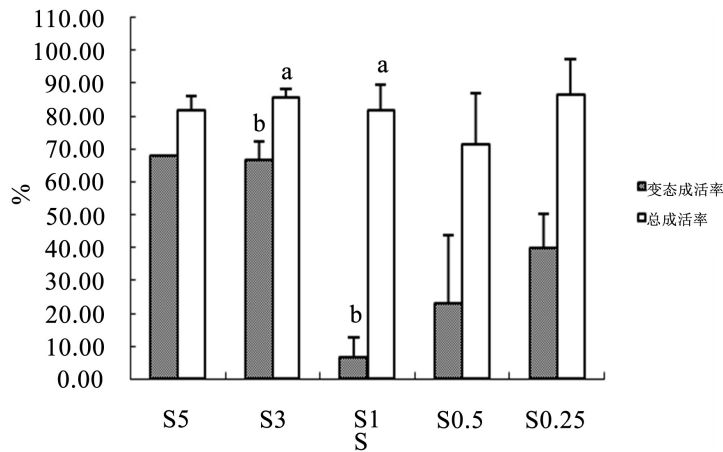


Figure 2. Curve fitting of salinity and juvenile crab mortality
图 2. 盐度与死亡率的曲线拟合图



备注：a、b 表示显著差异。

Figure 3. Comparison of metamorphosis survival rate of juvenile mud crab
图 3. 稚蟹变态率对比图

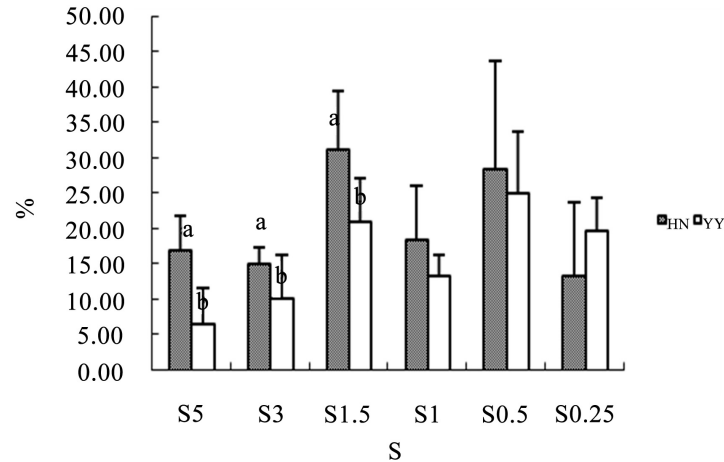
3.3. 不同品系稚蟹耐低盐能力

盐度 S5 和 S3 时, 海南品系(HN)对低盐度的适应能力显著低于“甬渔快优”(YY)品系($p < 0.05$), 而盐度降至 S0.25 以下时, 两种蟹的死亡率没有显著差异($p > 0.05$), 见图 4, 说明这两种蟹对极低盐度的适应能力接近。

3.4. 稚蟹的半致死盐度

通过盐度逐步下降适应后, 将稚蟹 C5 置于盐度 S0.2、S0.1、S0.0 的三个实验桶中进行 48 h, C4 置

于盐度 S1、S0.5、S0.3 实验水槽 96 h 致死实验, 从实验结果得出稚蟹 C5 的 12 h、24 h、48 h 和 C4 的 96 h 的半致死盐度(LS₅₀)分别为 0.017、0.150、0.173 和 0.236。半致死盐度模型方程符合 $P = b_0 + b_1X$, 拟合优势检验结果差异不显著($p > 0.05$), 模型拟合良好, 见表 4。



备注: a、b 表示显著差异。

Figure 4. Comparison of mortality rates of two strains of C3
图 4. 两种品系 C3 死亡率对比图

Table 4. Semi lethal salinity of juvenile mud crab
表 4. 初期稚蟹半致死盐度值

时间/h	线性回归方程	卡方 X ²	自由度 df	P 值	LS ₅₀ 半致死盐度值	95%置信区间	
						下限	上限
12	$p = 0.189 - 10.9856x$	11.189	7	0.131	0.017	-0.073	0.058
24	$p = 4.150 - 27.667x$	4.367	7	0.737	0.150	0.134	0.166
48	$p = 4.504 - 25.893x$	2.948	7	0.890	0.174	0.157	0.190
96	$p = 0.354 - 1.499x$	0.955	7	0.996	0.236	-0.106	0.388

4. 讨论与分析

4.1. 初期稚蟹对低盐度的适应性

拟穴青蟹对低盐度的适应能力强于高盐度的适应能力, 盐度是影响甲壳动物幼体存活率和发育速度的重要环境因子之一[3]。乔振国[6]介绍 C1~C4 的盐度适宜范围在 21~8, 最适盐度 15, 在 28 以上的高盐环境中培育 C3 以上的仔蟹, 会出现变态时间间隔延长和蜕壳不遂致死等现象。盐度 10.6~26.5 时, 盐度对稚蟹的成活率无影响[5]。将 2 日龄拟穴青蟹大眼幼体从盐度 32 环境直接移入盐度 6.4~25.6 环境条件下, 幼体的生长发育和存活率因盐度环境突降幅度的不同而呈现较大的差异。其中, 盐度 12.8、19.2 处理组大眼幼体变态为 C, 盐度 6.4 处理组幼体全部死亡, 说明在拟穴青蟹的大眼幼体阶段, 适当降低培育盐度将有助于提高育苗效果, 但盐度的突降幅度已超出幼体的自身调节能力极限。由此推测拟穴青蟹大眼幼体对盐度突降的适应能力应该在盐度 6.4 以上, 最适盐度为 19.2 [4]。梭子蟹幼蟹可较好地适应盐度的逐渐变化, 在适宜盐度范围内渐变, 幼蟹存活率高。同时, 盐度在逐渐降低过程中幼蟹的存活率和变态率均高于盐度逐渐升高[9]。逐级淡化, 三疣梭子蟹 II 期幼蟹可在盐度为 6.7 的水环境中存活和生长 [10]。

适当的低盐胁迫对其生存和蜕壳具有一定促进作用[9]，但盐度骤降幅度过大和盐度过低，稚蟹在接近盐度下限临界值时，变态率出现波动。幼蟹死亡大多由蜕壳死亡综合征[6]，实验观察到 S0.3~0.5 时，C4 死亡主要也是蜕壳困难所致。

半致死浓度反映生物的耐受性[8]。通过对刺参低盐的半致死时间的评价，不同选育群体的群体表现出良好的低盐耐受能力[11]。罗非鱼在每天将盐度提高 8% 的情况下，其半致死盐度为(112.93 ± 4.87)%，驯化致死盐度为 128%~136%，莫荷罗非鱼经过驯化可以耐受更高盐度的水环境[12]。程熙[13]日本沼虾幼虾在不同盐度条件下的半致死时间。脊尾白虾盐度突变对脊尾白虾成活率影响大，盐度从 6 下降至 0，8 h 后的成活率下降至 44%，对低盐度的适应能力弱[14]。天津厚蟹对低盐的耐受力较强，在盐度 0 的水体可以存活 96 h [15]。

本实验结果分析，盐度从 23 骤降至 18、13 直至 5，稚蟹顺利变态至 C2，变态成活率不受影响。稚蟹的适宜盐度范围扩大至下限值 5。从稚蟹(C5) 48 h 的半致死盐度 0.173，推测青蟹可以环境盐度 0.20 的水域中生长、养殖。

4.2. 不同品系稚蟹对低盐度胁迫的适应性

不同地理群体和选育的蟹耐盐度能力有差异，盐度对不同遗传背景三疣梭子蟹群体幼蟹的影响存在差异[16]。三疣梭子蟹“黄选 1 号”具有较强的渗透压调节能力，适应更低的盐度[17]。盐度对拟穴青蟹的存活情况有一定的影响，5 个地理种群拟穴青蟹仔蟹在盐度为 12~24 时存活数较高。在盐度为 6 和 12 时，海南和三门种群比其它种群生长表现要好[4]。

实验结果分析，盐度 S5 和 S3 时，海南品系(HN)对低盐度的适应能力显著低于甬渔快优(YY)品系($p < 0.05$)。海南品系的种蟹生活在高盐度的海区，选育的“甬渔快优”(YY)生活在浙江三门湾海区的盐度范围 20~26，两个品系对低盐度的适应性状在实验中有所表现，以上青蟹耐盐的遗传性状，可为选育适应低盐度的新品种提供参考。

4.3. 稚蟹的盐度淡化方法

拟穴青蟹在低盐度水域养殖，需要解决蟹苗尽快适应低盐度环境，因此，淡化方法十分重要。稚蟹淡化采取骤降与驯化结合的方式，在盐度 18 和 5 设立两个“阶梯平台”是十分有效的。如自然海水骤降至 S18 或 S13，然后再骤降至 S5，在“平台”上稳定 2 d。

降低幼体培育盐度，可以压缩稚蟹淡化的时间。青蟹幼体期对于低盐度同样表现出很强的适应性。锯缘青蟹幼体有较宽的盐度耐受范围[3]，拟穴青蟹大眼幼体生长的最适盐度为 19.2，适宜生长盐度下限在 12.8~19.2 之间，生存盐度下限在 6.4~12.8 之间[4]。拟穴青蟹大眼幼体适宜盐度为 20.5~26.5，幼蟹适宜盐度 10.5~26.5 [5]。笔者开展拟穴青蟹蚤状幼体盐度实验，将 2 日龄的蚤状幼体 Z1，在水温 25.57℃ ± 0.68℃，微充气条件下，盐度 S22 组的 Z1 幼体变态成活率比较盐度 S26 组的高，盐度 S22 组 Z1 幼体成活率 > 80%。通过降低幼体培育盐度，缩短蟹苗淡化时间是完全可能的。

5. 结论

初期稚蟹耐低盐度胁迫的能力强，从自然海水盐度(S) 23 骤降至 18 和 13，又从 13 骤降至 10 和 5，均维持在 80% 以上的成活率，组间无显著差异($p > 0.05$)，稚蟹的适宜盐度范围扩大至下限值 5。稚蟹变态成活率与盐度的关系以幂函数曲线方程最优， $y = 0.2309X - 0.5894$ ($R^2 = 0.98$)。逐渐降低盐度稚蟹 C5 的 12 h、24 h、48 h 和 C4 的 96 h 半致死盐度(LS₅₀)分别为 0.017、0.1500、0.1734 和 0.236。种蟹对生活海域环境盐度具有遗传性，生活在盐度较高的海南种蟹繁育的稚蟹与三门湾种蟹选育后繁育的子代对盐

度的适应能力存在显著差异($p < 0.05$), 选育的蟹适应低盐度环境的能力更强。通过低盐度驯化, 拟穴青蟹可以在盐度 0.20 的环境中生长。

致 谢

宁波大学海洋学院喻国洪、王蒙恩两位同学参与实验工作。

基金项目

浙江省宁波市重大科技攻关项目(2016C11003)。

参考文献

- [1] 赖庆生. 青蟹养殖[M]. 北京: 农业出版社, 1985: 10.
- [2] 李少菁, 王桂忠. 锯缘青蟹繁殖生物学及人工育苗和养成技术的研究[J]. 厦门大学学报, 2001, 40(2): 552-565.
- [3] 王桂忠, 林淑君, 林琼武, 等. 盐度对锯缘青蟹幼体存活与生长发育的影响[J]. 水产学报, 1998, 22(1): 89-92.
- [4] 元磊, 蒋科技, 顾孝连. 盐度突降对拟穴青蟹大眼幼体生长发育和 $\text{Na}^+ / \text{-K}^+ \text{-ATPase}$ 活性的影响[J]. 海洋渔业, 2011, 33(2): 201-206.
- [5] 陈建明, 沈斌乾, 潘茜, 等. 拟穴青蟹大眼幼体和幼蟹对盐度的适应性研究[J]. 中国水产, 2010(6): 4-5.
- [6] Stickle, W.B., Wyler, H.J. and Dietz, T.H. (2007) Effects of Salinity on the Juvenile Crab Physiology and Agonistic Interactions between Two Species of Blue Crabs, *Callinectes poidus* and *C. similis* from Coastal Louisiana. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 352, 361-370. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.08.013>
- [7] 乔振国, 张虎, 归从时. 环境因子对锯缘青蟹后期幼体仔蟹变态成活率的影响[J]. 海洋渔业, 2004, 26(1): 40-43.
- [8] 李翠萍, 吴民耀, 王宏光. 3 种半致死浓度计算方法比较[J]. 动物医学进展, 2012, 33(9): 89-92.
- [9] 王冲, 姜令绪, 王仁杰. 盐度骤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.
- [10] 隋延鸣, 高保全, 刘萍, 等. 三疣梭子蟹“黄选 1 号”盐度耐受性及适宜生长盐度分析[J]. 大连海洋大学学报, 2012, 27(5): 398-401.
- [11] 侯西坦, 廖梅杰, 李杉. 幼参对低盐胁迫的耐受及生理生化响应[J]. 海洋科学, 2016, 40(5): 19-28.
- [12] 刘玉姣, 朱华平, 卢迈新. 莫荷罗非鱼幼鱼耐盐性能的初步研究[J]. 海水渔业, 2015, 45(1): 109-112.
- [13] 程熙, 李家乐, 冯建彬. 日本沼虾幼虾的耐盐性研究[J]. 大连水产学院学报, 2008, 23(4): 315-317.
- [14] 龙晓文, 吴旭干, 刘智俊. 盐度对脊尾白虾存活、生长和蜕壳的影响[J]. 广东农业科学, 2014, 41(23): 111-130.
- [15] 徐敬明. 天津厚蟹对盐度和温度的耐受性[J]. 海洋学报, 2104, 36(2): 93-98.
- [16] 韩晓琳, 王好锋, 高保全. 低盐度对不同三疣梭子蟹群体幼蟹发育的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2014, 29(1): 31-34.
- [17] 马金武, 吕建建, 刘萍. 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.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2373-1443, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: ojfr@hanspub.org