

河蟹 (*Eriocheir sinensis*)

血淋巴的渗透压调节

● 成永旭

(河南省水产研究所)

目前我国人工养殖河蟹存在问题之一,就是仔蟹(大眼幼体蜕皮三至四次的河蟹)的成活率比较低。解决这一问题的关键,一是人工饲料的开发,一是建立一个适合这一阶段河蟹生存的水质生态环境。在自然状况下,由大眼幼体发育到仔蟹这一阶段水质生态环境的最大变化是盐度,即由半咸水过渡到完全的淡水。为适应这种变化,河蟹就必须不断地对其血淋巴渗透压进行调节。因此,若是了解了河蟹渗透压调节机制,就可利用其渗透压调节的特点,去创立一个有利于河蟹这一阶段生长生存的水质生态条件,以期提高其成活率。有关河蟹的渗透压调节机制问题,国内还未见有人研究和报导,而国外对这一问题的研究已比较深入了。本文就国外的一些有关资料及本人硕士论文的有关结果对这一问题做一阐述。

一、河蟹血淋巴的高渗调节机制

河蟹是一种广盐性的具有高度血淋巴渗透压调节功能的短尾甲壳类,即无论其血淋巴渗透压高于还是低于介质水环境,它都能通过调节而保持相对稳定。血淋巴高于介水环境的渗透压调节是高渗调节,河蟹的鳃是其血淋巴进行高渗调节的主要器官。这是因为一般机体的高渗调节差不多都要采用下述方式来进行:第一,通过机体某些器官主动吸收一些盐分来补偿由于进入低介质水环境而失去的盐分;第二,通过肾脏排出大量的低渗尿;第三,降低整个机体与外环境接触的表面水面对水面和离子的通透性,防止由于渗透作用使机体的盐分从表面大量的流失和外环境中水的进入。对于河蟹,在其高渗调节的过程中,尿始终与血淋巴保持等渗,所以第二种调节方式不起作用。河蟹采用第三种高渗调节方式时,是通过其肠胃和鳃来进行的,它们的高渗调节作用是其固有的结构所决定的。如Morris就广盐性的梭子蟹(*Carcinus maenus*)肠壁结构进行组织切片

观察,发现肠内外皮膜的磷脂结构有相当明显的差异,靠近肠腔的表皮(肠粘膜)磷脂的脂肪酸均由1-18碳的饱和脂肪酸组成,其中C14:0—C18:0占70%,而靠近血淋巴的肠壁(浆膜)中长链不饱和脂肪酸占绝对优势,其中C20:5 ω_3 和C22:6 ω_3 几乎占全部脂肪酸的40%,这种结构的差异使得肠腔表皮对水和离子的通透极为不易。这些器官固有的结构同样有利于机体低渗调节。故纵观以上三种调节方式,只有第一种调节在河蟹的高渗调节中具有一定的可塑性并起主要作用,而进行这种调节的器官是鳃。

河蟹鳃的高渗调节作用主要是通过鳃表皮细胞的Na—K—ATP酶来进行的。Na⁺和Cl⁻通过表皮细胞以不同的中间载体机制从外部吸收,为了保持电势平衡,Na⁺与H⁺、NH₄⁺交换(注:在Na—K—ATP酶作用下,Na⁺并不是与K⁺交换,但进行交换的酶的性质和Na—K—ATP酶相同,即都可由箭毒阻断,故还称Na—K—ATP酶),Cl⁻和HCO₃⁻交换(Shaw 1961, Pequeux 和 Gills 1981, 1987, 1988)。另外,也发现青圆蟹(*Callinectes spidus*)、梭子蟹(*C. maenus*)、地蟹(*Uca cordatus*)等具有强烈高渗调节作用的广盐性蟹类也具有类似的调节机制。

在河蟹的高渗调节范围内,当河蟹由高盐度介质转入低盐度介质时,Na—K—ATP酶的渗透调节作用首先是酶活性的提高,随着时间的延长,还可能通过机体进一步合成Na—K—ATP酶,以使Na—K—ATP酶的量增加而进一步调节。这种长期的和短期的酶活性调节在青圆蟹中已被证实。

对于具有强烈高渗调节的蟹类,在进行高渗调节过程中均发现Na—K—ATP酶活性在后端鳃中要比前端鳃中高得多。已有实验证明河蟹前三对鳃主呼吸作用,后三对鳃起渗透调节作用。这种功

能的不同是由于两者的微细结构和组成上存在差异(参看五)造成的。

二、河蟹血淋巴渗透压的调节与其蜕皮生长和存活的关系。

对于一些广盐性的蟹类,在其高渗调节范围之内,盐度变化一般不会影响生长。若超越此范围,生长一般都会受到抑制。如*Carcinus maenas*在30‰盐度下生长要比在22‰的盐度下生长慢,其原因是在22‰的盐度下进行的是高渗调节,30‰的盐度下变为等渗调节(见表1)。再如*C. spidus*在9—27‰高渗调节范围内生长不受影响,而

表1 不同盐度下河蟹(*C. maenas*)血淋巴渗透压变化

盐度渗透压 (mOsm)	450	700	1050	1115	1100
血淋巴渗透压(mOsm)	540	720	880	905	1075

注: * 盐度=20—25‰, * 盐度=30‰

在30—34‰盐度下生长受到抑制(28—35‰是等渗调节),这两种蟹不能完全在淡水中生活是由于其高渗调节能力的限制。

对于成熟的河蟹来说,血淋巴渗透压均在500—600mOsm kg^{-1} 之间,相当于20‰的海水。所以成蟹的高渗调节范围至少应在0—20‰之间。对于仔蟹和幼蟹,其高渗调节范围要窄一些。据王幽兰测定,青春前期河蟹血淋巴渗透压在390mOsm kg^{-1} 左右,相当于盐度为14‰左右的海水,对于仔蟹应该更低。所以由大眼幼体到仔蟹这一阶段高渗调节的最大范围应在0—14‰盐度之间。

我们在实验中设计了仔蟹高渗调节范围的三个盐度梯度即淡水、5.80‰、11.45‰,对大眼幼体发育成仔蟹的生长进行实验,也无发现对它们的生长有影响,只是在高渗调节范围之内,随介质盐度的升高,大眼幼体育成仔蟹的成活率也随之提高(11.45‰盐度下成活率为55.5%,5.80‰下为33.0%,淡水中为22.5%)。

盐度对河蟹生长的影响,我们的实验结果还只限于仔蟹和大眼幼体,至于对河蟹以后的生长会产生什么影响还有待于进一步研究。

在高渗调节范围之内,提高介质盐度能明显地提高大眼幼体育成仔蟹的成活率,可能是因此阶段河蟹的渗透调节能力有限,具体表现在不能适应一定范围之内盐度的变化,而介质盐度的提高,可

能使这种调节能力不足得到缓和,因为Pequex等已证实,在河蟹高渗调节范围之内,随着外界 Na^+ 浓度的增加, Na^+ 的主动吸收也增加,在外界 Na^+ 浓度达到100mM时(相当于盐度为10‰的海水中 Na^+ 浓度),主动吸收达最大值。在100mM—250mM(相当于20‰海水中 Na^+ 浓度)情况下, Na^+ 的主动吸收保持在最高水平,基本上不再增加。可见提高外界 Na^+ 浓度,可促使 Na^+ 的主动吸收加快,使蟹的高渗调节比较容易进行。

甲壳类的生长主要是蜕皮生长,包括体长和体重的增加。体重的增加主要靠蜕皮时从介质中大量吸水。如河蟹仔蟹蜕皮时吸收水份占蜕皮前体重的40—60%,*Carcinus maenas*占56%,*Cancer pagurus*占94%,蜕皮时吸水的机制还不清楚。现知在蜕皮前河蟹血淋巴渗透压增加,渗透压的升高对吸收水份是有利的,但大量吸水不可能以这种方式来进行,Haefner和Schuster曾对青圆蟹蜕皮时的吸水进行计算,结果表明,在蜕皮前血淋巴渗透压的升高而产生的吸水远远低于蜕皮时所吸收的水量。

对青圆蟹的实验还证实,尽管在蜕皮时吸收了大量水份,但血淋巴 Na^+ 和 K^+ 浓度在蜕皮前后并未发生明显的变化,这是由于在蜕皮前后鳃中的 $Na-K-ATP$ 酶活性都有一个明显的增加,蜕皮后酶活性的增加是为了维持和稳定血淋巴一定的渗透浓度。蜕皮前酶活性的增加是为了提高血淋巴渗透浓度,以利于蜕皮时的吸水。河蟹的情况也很可能和青圆蟹一样。

三、水中某些无机离子及其变化与河蟹血淋巴渗透压调节的关系

表2: 河蟹血淋巴(H)尿(U)与环境(M)中Ca、Mg浓度关系

	Ca (毫克当量)			Mg (毫克当量)		
	M	H	U	M	H	U
淡水		12	4.7		3.3	1.6
100‰海水	9.2	12	8.5	50	12.0	47.0
150‰海水	14.0	16	9.0	63	18.0	170.0

从表2中可以看出,河蟹血淋巴 Ca^{2+} 浓度在不同盐度介质中基本上保持相对的稳定,而 Mg^{2+} 浓度的变化则比较大。*Uca cordatus*, *C. spidus*等广盐性蟹类的情况也是如此。这说明广盐性蟹类对 Ca^{2+} 的吸收是主动吸水,而对 Mg^{2+} 的吸收则是被动的。因此,当提高环境中 Mg^{2+} 浓度

时,可增加血淋巴中 Mg^{2+} 浓度,而血淋巴中 Mg^{2+} 的变化可影响到细胞中 $Na-K-ATP$ 酶的活性,因为 Mg^{2+} 是此酶的激活剂。

Winker研究了 Na 、 K 、 Ca 、 Mg 对 *C. mean*—us离体鳃中 $Na-K-ATP$ 酶的影响时发现,环境中 Ca^{2+} 浓度在 $0.2-3.0mM$ 时,对 $Na-K-ATP$ 酶的活性有强烈的抑制作用。另一组在加入 $25mM$ 的 Mg^{2+} 时,这种抑制作用消失了。这说明在广盐性蟹类中, Ca 和 Mg 在其高渗调节方面存在互相拮抗的作用。提高 Mg^{2+} 浓度可使 $Na-K-ATP$ 酶的活性提高,有助于蟹的高渗调节活动。由此在我们对大眼幼体育成仔蟹的实验中,就采用了在淡水中加入一定量的 $MgSO_4$, Mg^{2+} 的加入使血淋巴中 Mg^{2+} 浓度相应提高,从而改善了河蟹高渗调节的能力,结果使河蟹的成活率有明显的提高。不过,从表2中还可以看出,水中 Mg^{2+} 过高,河蟹由尿中排出的 Mg^{2+} 也增加,所以并不是环境中 Mg^{2+} 浓度越高越好。我们实验的初步结果认为, Mg^{2+} 浓度在 $400mg/L$ (相当于14‰海水的 Mg^{2+} 浓度)左右较好。

实验还表明,在环境水中单独提高 Ca^{2+} 浓度对大眼幼体发育成仔蟹成活率影响不大。这大概是由于环境中 Ca^{2+} 的变化不能引起血淋巴中 Ca^{2+} 发生相应的变化,因而对河蟹的高渗调节不会产生什么影响,它可能对河蟹蜕皮后的钙化起一定的作用。

$NaCl$ 的主动吸收靠 Na^+/H^+ 、 NH_4^+ 和 Cl^-/HCO_3^- 的交换来进行。外环境的PH值越高(H^+ 浓度越低),对 Na^+ 的主动吸收就越有利。所以河蟹大都喜欢在偏碱性的水环境中生活,对酸性水环境较为敏感,对碱性环境较能忍耐。但其对碱性的耐受性也是有限的,其原因之一是PH值过高,会影响到 Cl^- 的吸收。适宜河蟹生存的水环境的PH值在8—9之间。

外环境的 NH_4^+ 浓度升高,也会影响到 Na^+ 的主动吸收。故河蟹一般喜欢在水质清新的环境中生活。

四、河蟹血淋巴的渗透压调节与血淋巴酸碱平衡关系

当广盐性蟹类由高盐度介质进入低盐度介质中时,其代谢活动要加强,代谢产物 CO_2 一部分在组织细胞的碳酸酐酶作用下形成 H^+ 和 HCO_3^- ,使血淋巴的PH值有降低的趋势,同时,组织中游离子

基酸脱氨基化作用加强, NH_3 的排泄增加(有人认为这种脱氨基化作用与组织细胞渗透压调节有关),这些由组织排出的一部分 NH_3 又可与血淋巴中的 H^+ 结合形成中性的 NH_4^+ ,使血淋巴的PH值不至于由于代谢加强而降低,血淋巴的酸碱度仍维持相对稳定。这时血淋巴中增加了的 H^+ 和 NH_4^+ , HCO_3^- 正好与河蟹由于高渗调节作用而增加了的 $NaCl$ 的主动吸收相耦联,通过鳃表皮细胞而相互交换,其最终结果是既维持了血淋巴渗透压的相对稳定,又保持了血淋巴的酸碱平衡。

五、河蟹血淋巴的渗透压调节与其鳃组织的磷脂成分的关系

Capelle等(1984)发现,在河蟹鳃组织中有含量很高的卵磷脂,磷脂酰乙醇胺,磷脂酸,而且在这些磷脂中含有比较丰富的长链不饱和脂肪酸,如 $C_{20:4\omega_6}$ 和 $C_{22:6\omega_3}$, 又是不均匀地分布在鳃组织中。后端三对鳃长链多不饱和脂肪酸的含量分布比前端三对鳃高得多(注:前面已提及后端三对鳃在渗透压调节方面起主要作用),尤其在河蟹从高盐度转入低盐度环境时,这种差别更为显著。这种结构的差异决定了它们生物膜流动性的不同,即后三对鳃组织生物膜具有比较高的流动性,易于膜中间载体主动转运 $NaCl$ 。

在进入低盐度介质时,后端三对鳃卵磷脂和磷脂酸增高。它有两个方面的作用:磷脂酸的升高可提供后端三对鳃高渗调节时主动吸收 Na^+ 的能量;卵磷脂的提高可使 $Na-K-ATP$ 酶活性增加。总之,这些脂质在鳃中的差异分布和量的变化都为河蟹进行高渗调节提供物质和结构基础。

以上讨论了河蟹高渗调节的问题,对这个问题的认识仍是初步的和不全面的。但希望能在在此基础上为今后河蟹增殖所采用的技术措施提供一点参考。比如,现在人工半咸水育苗中大多是在育出大眼幼体后就马上淡化,然后放流或进行暂养,此间死亡率很高。能否考虑根据此阶级渗透压调节弱的特点,在育出大眼幼体后不马上淡化,而是继续育成仔蟹后出池?或考虑到经济原因,从大眼幼体后,用添加一定量的 Mg^{2+} 的淡水培育?另外,人工饲料配制方面,是否应该注意饲料中脂肪添加的质量?即要含有一定量的磷脂和长链多不饱和脂肪酸(这些脂肪酸是必需脂肪酸),因为它们是河蟹进行高渗调节的重要物质基础。

表2 三种药品对河蟹溞状 I 期幼体纤毛虫病的治疗效果

药品	浓度 (mg/L 或 ml/L)	药 浴 时 间 (h)				
		0	1	2	3	6
制霉菌素	35	试验幼体: 178 只, 100% 被钟虫或聚缩虫固着, 呈绒毛状, 活动力弱, 趋光性差。	幼体死 1 只, 存活 99.4%, 仍呈绒毛状, 但纤毛虫收缩缓慢。	幼体死 3 只, 存活 98.3%, 纤毛虫停止收缩。	幼体 98.3% 存活, 纤毛虫离体, 幼体活动力、趋光性强。	同左。
	65	试验幼体: 139 只, 其它同上。	幼体 100% 存活, 纤毛虫停止收缩。	幼体死 2 只, 存活 98.6%, 纤毛虫部分离体, 幼体活动增强。	幼体死 3 只, 96.4% 存活, 纤毛虫全部离体, 幼体活泼, 趋光性强。	幼体死 8 只, 存活 94.2%, 其它同左。
	125	试验幼体: 190 只, 其它同上。	幼体死 3 只, 存活 97.4%, 纤毛虫 100% 停止收缩, 部分离体。	幼体死 9 只, 存活 95.3%, 纤毛虫全部离体, 幼体活泼。	幼体死 10 只, 94.7% 存活, 其它同上。	同左。
福尔马林	10	试验幼体: 35 只, 其它同上。	幼体死 2 只, 存活 94.3%, 呈绒毛状, 沉底, 活动、趋光弱。	同左。	幼体死 3 只, 存活 91.4%, 其它同左。	同左。
	25	同上。	幼体死 1 只, 97% 存活, 其它同上。	幼体死 4 只, 存活 88.6%, 其它同左。	同左。	幼体死 7 只, 80% 存活, 其它同左。
孔雀石绿	0.006	试验幼体: 40 只, 其它同上。	幼体 100% 存活, 其它同上。	幼体死 2 只, 存活 95%, 其它同左。	同左。	幼体死 5 只, 存活 87.5%, 其它同左。
	0.050	试验幼体: 52 只, 其它同上。	幼体死 11 只, 存活 78.8%, 其它同上。	同左。	幼体死 13 只, 存活 75%, 其它同左。	幼体存活 75%, 纤毛虫收缩减缓。
对 照		试验幼体: 187 只, 其它同上。	幼体死 13 只, 存活 93%, 绒毛状, 沉底, 活动力、趋光性差。	幼体死 17 只, 存活 91%, 其它同左。	幼体死 21 只, 存活 89%, 其它同左。	幼体死 28 只, 存活 84.8%, 其它同左。

表3 制霉菌素(35mg/L)对河蟹卵和幼体固着类纤毛虫病的生产性治疗

池号	时 间	药浴前 4~5 h	药浴前 0 h	药浴 3 h 后 (1992-04-30-6:00)
9#	1992 年 4 月 29 日 22 时	孵出 Z ₁ 2250 万尾, 全部受钟虫或聚缩虫固着, 活动和趋光性差, 大部分呈肉眼可见绒毛状, 镜检幼体肠道空, 虫体收缩活跃, 有沉底死亡个体出现。	孵出 4h. 后, 幼体存活 1950 万尾, 死亡率 13.3%, 幼体受钟虫或聚缩虫固着比例增加, 几乎 100%, 并且呈绒毛状的幼体的数量加大。	幼体体表光滑, 无钟虫或聚缩虫固着, 活动能力和趋光性明显增强, 幼体定量 1880 万尾, 药浴后死亡率仅为 3.6%, 幼体肠道较满, 拖便。
10#	1992 年 4 月 29 日 21 时	孵出 Z ₁ 1760 万尾, 其它同上。	孵出 5h. 后, 幼体存活 1450 万尾, 死亡率 17.6%, 其它同上。	幼体定量 1400 万尾, 药浴后死亡率为 3.4%, 其它同上。
12#	1992 年 4 月 30 日 3 时		抱卵蟹约 500 只, 卵 100% 受固着, 肉眼观察呈污脏状, 镜检呈星芒状, 虫体收缩活跃, 胚胎发育至眼点期或心跳期。	蟹卵表面光滑透明, 无钟虫或聚缩虫固着, 有 Z ₁ 孵出, 并且 Z ₁ 活泼、趋光、拖便, 无钟虫等固着。