

文章编号: 1674-5566(2015)04-0481-08

饲养环境对中华绒螯蟹仔蟹生长与蜕壳相关基因表达的影响

慈元吉, 黄 姝, 岳武成, 王 军, 王成辉

(上海海洋大学 农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306)

摘 要:中华绒螯蟹在不同饲养环境条件下生长存在巨大差异,为探讨不同环境条件对仔蟹生长和蜕壳相关基因表达的影响,了解基因表达的时空变化及其与环境的互作关系,本研究选取同一家系的大眼幼体和仔蟹分别饲养于室内玻璃钢水槽和室外小型水泥池两种环境,观察它们的生长差异,并应用荧光定量 PCR (qRT-PCR) 技术对甲壳动物高血糖素 (CHH)、蜕皮抑制激素 (MIH)、蜕皮激素受体 (EcR)、维甲类 X 受体 (RXR) 以及性腺抑制激素 (GIH) 5 个蜕壳相关基因的表达情况进行了分析。结果发现:室外水泥池饲养的仔蟹体质量均显著大于室内水槽饲养的仔蟹体质量 ($P < 0.05$)。环境对 MIH 和 RXR 基因的表达不存在显著影响 ($P > 0.05$), 而 CHH、EcR 和 GIH 均存在极显著的环境表达差异 ($P < 0.01$); 5 个基因 (MIH、CHH、EcR、GIH 和 RXR) 均存在显著的不同发育时期表达差异 ($P < 0.05$); 除 MIH 基因外, 其他 4 个基因 (RXR、CHH、EcR 和 GIH) 的表达存在极显著的饲养环境与发育时期的交互作用 ($P < 0.01$)。研究还发现, MIH、GIH 和 CHH 对河蟹的蜕壳具有协同调控作用, 而 RXR 与 GIH 对河蟹蜕壳具有一定程度的拮抗作用。

研究亮点: 本文研究了不同饲养环境的中华绒螯蟹仔蟹在不同发育时期的生长差异, 以及蜕壳相关基因的表达差异, 发现了蜕壳相关基因与仔蟹饲养环境、不同发育时期的基因表达与饲养环境的互作, 以及蜕壳相关基因对河蟹蜕壳活动的协同与拮抗作用。

关键词: 中华绒螯蟹; 环境差异; 发育时期; 蜕壳与生长; 基因表达

中图分类号: S 917

文献标志码: A

中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*), 俗称河蟹, 其生活周期可分为溞状幼体、大眼幼体、仔蟹、幼蟹、成蟹等几个阶段^[1]。仔蟹期是河蟹大眼幼体变态后, 从“游泳型”转向“爬行型”的起始阶段, 是身体增长变化最大的阶段, 是河蟹生活周期的转型时期, 对外界环境较为敏感, 也是生产上蟹种培育过程中的关键时期。仔蟹期根据其蜕壳频率通常分为仔 I 期、仔 II 期、仔 III 期、仔 IV 期和仔 V 期共 5 个阶段^[2]。研究仔蟹每个阶段的生长特点及其对环境的敏感性, 有助于我们更加深入了解河蟹生长的生物学过程, 为更好地开展仔蟹及蟹种培育打下基础。

甲壳动物的生长发育总是与蜕壳联系在一起, 而蜕壳受到神经系统、内分泌系统和多种激

素以及外界环境的协同调控^[3-5]。在不同蜕壳时期, Y-器官分泌的蜕皮激素 (ecdysteroid hormones, EH) 的含量会相应地发生变化, 进而调控蜕壳的正常进行。然而蜕皮激素需通过蜕皮激素受体 (ecdysone receptor, EcR) 和维甲类 X 受体 (retinoid X receptor, RXR) 这两个基因作为媒介而发挥作用^[6-7]。此外, 蜕皮激素的分泌以及甲壳动物的蜕壳也受到其他相关激素的调控或影响, 如蜕皮抑制激素 (MIH)、高血糖激素 (CHH)、性腺抑制激素 (GIH) 和大颚器抑制激素 (MOIH) 等^[8-16]。因此, 开展 CHH、GIH、MIH、EcR 以及 RXR 这 5 个基因在甲壳动物蜕壳与生长过程中的表达差异, 有助于我们增强对河蟹等甲壳动物生长发育的认识。

收稿日期: 2015-01-17 修回日期: 2015-02-16

基金项目: 上海市中华绒螯蟹产业技术体系建设项目 [沪农科(产)字 2014-4 号]; 上海市科委崇明科技专项项目 (13391912102); 上海市工程技术中心建设项目 (03DZ2251800)

作者简介: 慈元吉 (1989—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物种质资源与种苗工程。E-mail: 260826373@qq.com

通信作者: 王成辉, E-mail: wangch@shou.edu.cn

近 10 余年来,河蟹养殖在我国取得了迅猛发展,但有关仔蟹不同发育时期在不同养殖条件下的生长研究还比较薄弱,对其生长差异的内在原因与机理尚待进一步研究。本文通过分析不同饲养环境下仔蟹在不同发育时期的生长差异及其 5 个蜕壳相关基因表达情况,探讨生长表型、基因表达与饲养环境的互动,以期为中华绒螯蟹的蜕壳生长研究与健康养殖提供新资料。

1 材料与方 法

1.1 实验材料和表型性状测量

取同一家系的大眼幼体分别放养于室外小型水泥池(3 m×3 m×1 m,光滑磁砖贴面,内放水花生;投放大眼幼体 60 g)和室内玻璃钢水槽(120 cm×45 cm×50 cm,内放水花生,投放大眼幼体 3 g)两种环境。实验期间,室外水泥池的平均水温为 25.4 ℃,溶解氧平均为 7.0 mg/L,pH 为 8.2;室内水槽的平均水温为 23.0 ℃,溶解氧为 6.5 mg/L,pH 为 7.6。由于仔 I、仔 II 期的河蟹个体规格很小,每次只测量 10 只仔蟹的群体体质量,重复 3 次,然后换算其个体均质量;仔 III-仔 V 期的个体规格变大,实行单只测量体质量,每次测量 30 只仔蟹,计算其个体均质量。同时,每个发育时期选取 10 只仔蟹保存于 -80 ℃冰箱中用于基因表达分析。

利用 SPSS 17.0、EXCEL 2007 等软件进行生长差异的统计分析、相关参数作图和显著性检验。

1.2 基因表达分析

本文共选取 5 个蜕壳相关基因(*CHH*、*GIH*、*MIH*、*EcR* 和 *RXR*)进行分析。

1.2.1 总 RNA 提取与 cDNA 合成

分别对大眼幼体及两种环境下不同时期的仔蟹整体研磨提取总 RNA,每个发育时期设置 3 个重复,并反转录合成 cDNA。RNA 提取采用 AxyPrep Multisource Total RNA MiniPrep Kit (AxyGen 09113KD1) 试剂盒,反转录采用 PrimeScript[®] RT reagent Kit 试剂盒(宝生物工程大连有限公司)。

1.2.2 实时荧光定量 PCR 分析

利用 NCBI 公布的上述 5 个基因序列,设计荧光定量 PCR 引物,以中华绒螯蟹 β -actin 基因为内参,设计内参引物 β -actinF 和 β -actinR(表 1)。应用 Bio-Rad CFX96 进行 PCR 扩增,反应参数:预变性 94 ℃ 3 min;然后 94 ℃ 30 s、60 ℃ 30 s、72 ℃ 2 min,共 40 个循环;最后 72 ℃ 10 min,溶解曲线 60~94 ℃。

按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行荧光定量的数据分析^[17],用 SPSS 17.0 进行单因素方差分析(ANOVA)和 Dunnett 方法多重比较。

表 1 本实验所用的荧光定量 PCR 引物序列

Tab. 1 Primers used for realtime quantitative PCR in this study

基因 gene	GenBank 号 GenBank accession	引物序列(5'-3') primer sequence(5'-3')	退火温度/℃ T _m	扩增片段大小/bp fragment size
<i>RXR</i>	KF179131	RXR-F:ACTGCTGCAATGACGTGGAA	60	84
		RXR-R:GCTCGTCAGGGTAGGTGCTG	60	
<i>CHH</i>	DQ146948.1	CHH-F:GCTACAGCAACCTCGTCTTCCG	60	100
		CHH-R:TTCTTCTGCCAACCACCC	60	
<i>MIH</i>	DQ341280.1	MIH-F:TGAAGACTGCGCCAACATCT	60	130
		MIH-R:CGTGAGGTCGTCCTTCTGTG	60	
<i>EcR</i>	KC823045.1	EcR-F:GCCACACTTCAACGAGAAGA	60	120
		EcR-R:GCTGTTTCCAAACACAATGC	60	
<i>GIH</i>		GIH-F:ATCAGCCCATCACAGAAG	60	143
		GIH-R:CAGCATCCACCAAATCAG	60	
β -actin	HM053699	β -actin-F:TCATCACCATCGGCAATGA	60	100
		β -actin-R:TTGTAAGTGGTCTCGTGGATG	60	

2 结果与分析

2.1 不同饲养环境的仔蟹生长差异

室外池塘与室内水槽两种饲养环境下仔蟹 5 个发育时期的体质量表型值列于表 2,其生长动态如图 1 所示。可以看出,从仔 I - 仔 V,室外

池塘饲养的平均体质量由 9.07 mg 增加到 235.97 mg,增长了 26.02 倍,平均每次蜕壳增长 6.5 倍;室内水槽饲养的平均体质量由 8.46 mg 增加到 189.93 mg,增长了 22.45 倍,平均每次蜕壳增长 5.6 倍。从仔 I 期开始,室外池塘的仔蟹体质量均显著大于室内水槽的仔蟹体质量($P < 0.05$)。

表 2 室外池塘与室内水槽饲养环境下 5 个仔蟹发育期的体质量表型值(平均值 ± 标准差)

Tab.2 Individual mean weight of larva Chinese mitten crab at five developmental stages reared in the outdoor pond and indoor closet conditions (Mean ± SD) mg						
饲养环境 rearing environment	大眼幼体 megalopa	仔 I 期 larva I	仔 II 期 larva II	仔 III 期 larva III	仔 IV 期 larva IV	仔 V 期 larva V
室外池塘 outdoor pond	4.56 ± 0.02	9.07 ± 0.31	23.30 ± 1.10	50.73 ± 3.29	109.91 ± 10.44	235.97 ± 23.77
室内水槽 indoor closet		8.46 ± 0.04	19.88 ± 0.56	40.00 ± 4.25	84.52 ± 9.86	189.93 ± 25.30

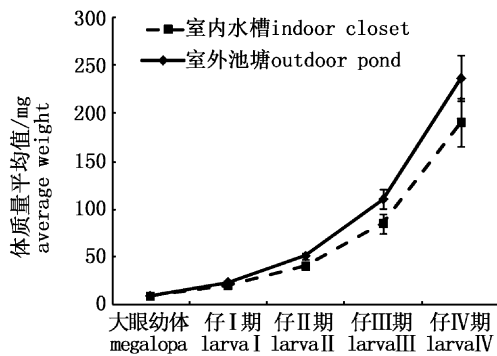


图 1 室外池塘与室内水槽饲养环境下仔蟹的生长动态

Fig.1 Growth dynamic of larva Chinese mitten crab reared in the outdoor pond and indoor closet conditions

2.2 蜕壳相关基因的表达分析

2.2.1 大眼幼体时期的基因表达分析

在大眼幼体阶段, *MIH* 和 *GIH* 两个基因的表达量显著高于其他基因($P < 0.05$),而 *RXR* 基因的表达量又显著高于 *EcR* 和 *CHH* 这两个基因($P < 0.05$,图 2)。结果表明在相同的大眼幼体时期,5 个蜕壳相关基因存在显著的表达差异。

2.2.2 仔蟹时期的基因表达分析

在室外池塘,从仔 I - 仔 V, *MIH*、*GIH* 和 *CHH* 基因具有相似的表达模式,均随着仔蟹的发育(仔 I - 仔 IV)呈下降趋势,仔 V 期又略有上升;而 *RXR* 基因的表达模式与之相反,随着仔蟹的发育呈上升趋势;而 *EcR* 基因在各发育阶段无显著的表达差异($P > 0.05$,图 3)。在室内水槽, *MIH*、*CHH* 与室外条件下表达模式都是呈下降趋势; *CHH* 基因在仔 I - 仔 III, *EcR* 基因在仔 I

- 仔 II, *RXR* 基因在仔 I 期的表达量均显著高于其他时期($P < 0.05$);而 *MIH* 基因在仔 I 期的表达量显著高于其他时期(图 4)。

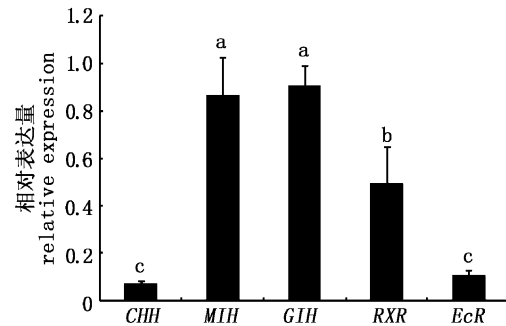


图 2 5 个蜕壳相关基因在中华绒螯蟹大眼幼体阶段的表达情况

Fig.2 Expression profiles of the five molting-related genes in megalopas of Chinese mitten crab

不同字母表示差异显著性水平($P < 0.05$),图 5 同此。

The different letters indicate the significant level, same as Fig. 5.

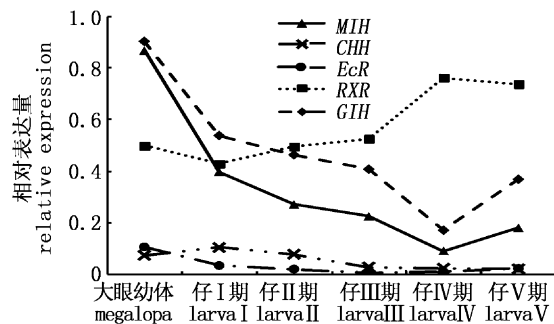


图 3 室外池塘条件下各仔蟹期的基因相对表达量
Fig.3 Gene relative expression of larva Chinese mitten crab reared in outdoor pond environment

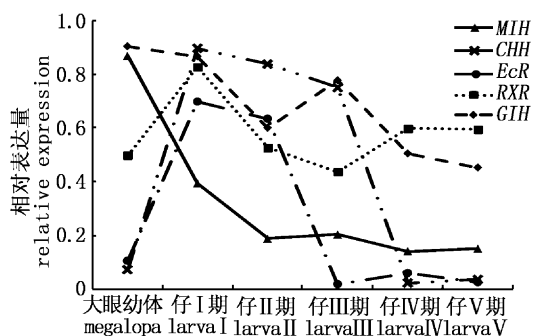


图4 室内水槽条件下各仔蟹期的基因相对表达量
Fig.4 Gene relative expression of larva Chinese mitten crab reared in indoor closet environment

5个蜕壳相关基因在室外池塘和室内水槽两种环境下的表达对比表明(图5):*EcR*、*CHH*和*GIH*基因在室内水槽中的表达量均高于室外池塘中的表达量,其中*CHH*基因在仔I-仔III期,*EcR*基因在仔I-仔II期,及*GIH*基因在仔I-仔V期的室内水槽的表达均显著高于室外池塘($P < 0.05$),而*MIH*、*RXR*基因在两种饲养环境的表达无显著差异。该结果表明:*MIH*、*RXR*基因的表达受环境的影响较小,而*CHH*、*EcR*和*GIH*基因的表达与环境条件密切相关,存在显著的基因表达与环境交互。

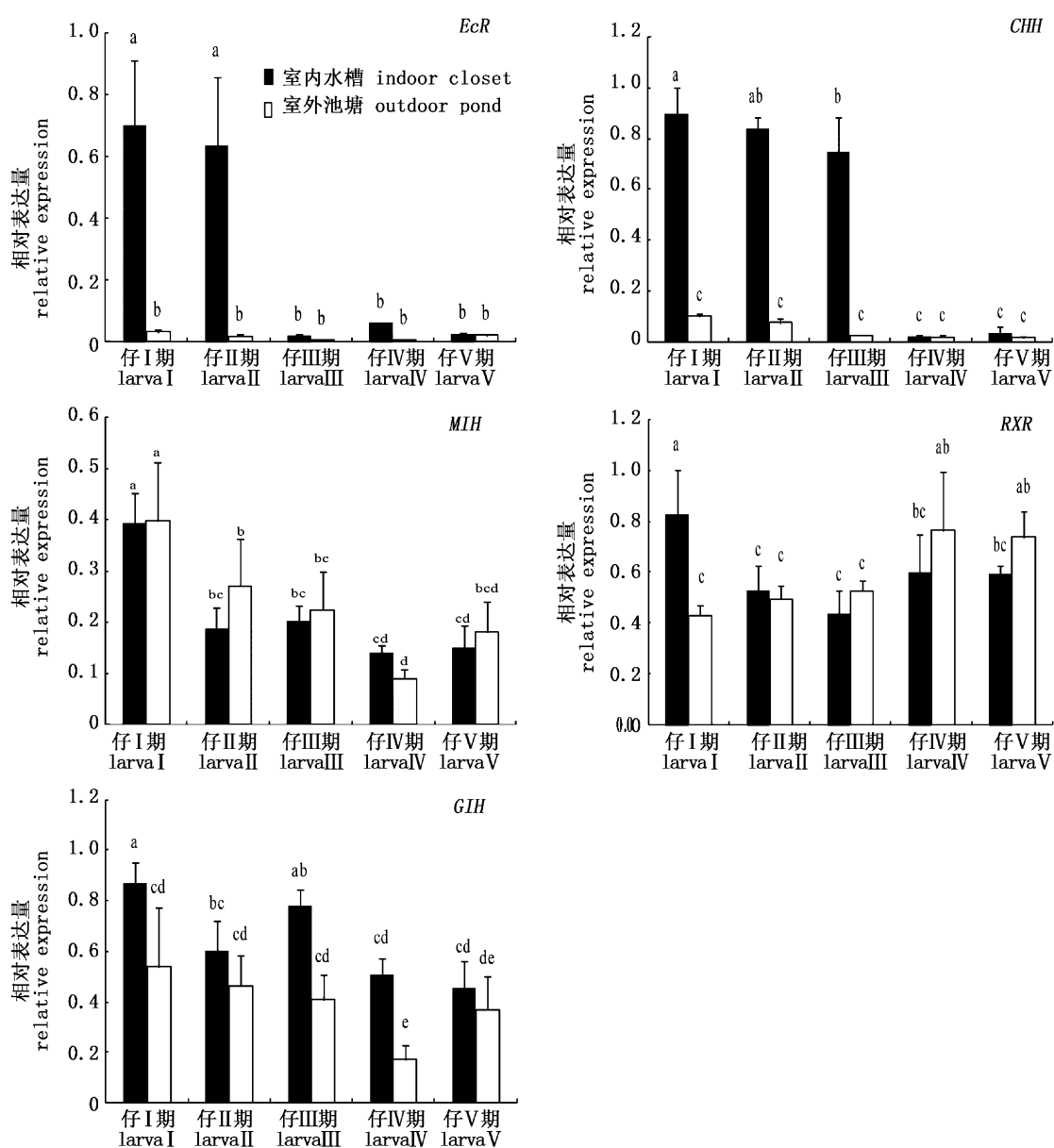


图5 室外池塘与室内水槽饲养环境下仔蟹蜕壳相关基因的表达情况
Fig.5 Expression profiles of the molting-related genes in larva Chinese mitten crab reared in the outdoor pond and indoor closet environments

2.3 基因表达的多重方差分析

对不同饲养环境和不同发育时期的基因表达量进行多重方差分析(表3)表明:除 *MIH* 和 *RXR* 基因外, *CHH*、*EcR* 和 *GIH* 基因均表现出极显著的环境表达差异($P < 0.01$), *MIH*、*CHH*、*EcR* 及 *GIH* 基因表现出极显著的不同发育时期表达差异

($P < 0.01$), *RXR* 基因表现出显著的不同发育时期表达差异($P < 0.05$); *RXR*、*CHH*、*EcR* 和 *GIH* 基因的表达表现出极显著饲养环境与发育时期的交互作用($P < 0.01$), 而 *MIH* 基因的表达量无显著的交互作用($P > 0.01$)。

表3 饲养环境与发育时期对基因表达量的多重方差分析

Tab.3 Multi-ANOVA analysis of gene expression from rearing environments and developmental stages

变异来源 variation sources	自由度 df	<i>MIH</i>		<i>CHH</i>		<i>EcR</i>		<i>RXR</i>		<i>GIH</i>	
		F 值	P 值	F 值	P 值	F 值	P 值	F 值	P 值	F 值	P 值
养殖环境 rearing environment	1	0.56	0.46	504.93	<0.01	37.11	<0.01	0.02	0.88	26.76	<0.01
发育时期 developmental stage	4	17.31	<0.01	106.18	<0.01	12.84	<0.01	3.49	0.03	7.10	<0.01
饲养环境 × 发育时期 environment × stage	4	0.90	0.48	81.45	<0.01	11.72	<0.01	5.64	<0.01	1.44	<0.01

3 讨论

环境对中华绒螯蟹的生长发育有很大影响。有研究发现,河蟹幼蟹的蜕壳与环境密切相关^[18],不同的饲养环境下,其生长速度也存在着显著的差异^[19-23]。在其他甲壳动物中也存在类似的现象,如罗氏沼虾在不同大小的池塘中其生长和成活率有显著差异^[24];不同盐度、温度、溶解氧等对龙虾、蓝蟹仔蟹的生长有显著影响^[25-27]。本实验中,在室外池塘条件下河蟹仔蟹(仔I-仔V期)的体质量显著大于室内水槽养殖条件,这也说明环境对仔蟹的生长有显著的影响。

本文对5个蜕壳相关基因在大眼幼体和不同发育时期仔蟹以及养殖环境条件下的表达进行分析,发现 *MIH* 基因在大眼幼体时期的表达量显著高于其他仔蟹时期,且随着发育进程,其表达量逐渐降低并保持稳定,表明在大眼幼体时期分泌较高的蜕皮抑制激素,可能造成蜕壳所需的时间较其他发育时期长。有研究表明大眼幼体的蜕皮间隔约6~10 d,而仔蟹期(仔I-仔V)平均蜕壳时间约4~8 d^[4, 28],这与本实验结果相一致。在室外池塘和室内水槽两种环境中, *MIH* 基因的表达量无显著差异,多因素方差分析也表明 *MIH* 基因在两种环境下表达差异不显著,说明仔蟹不同发育时期的 *MIH* 基因的表达是相对恒定的,且受环境影响较小,这与 CHAN 的结果相似^[29]。 *CHH* 基因在室内水槽条件下的表达量均

高于室外池塘条件,这可能是由于室内水槽的养殖环境、水体营养等条件较室外池塘的大水体条件差,进而诱导 *CHH* 基因的大量表达。此外,也有研究表明, *CHH* 基因对于环境的敏感度较高,组织缺氧、温度和盐度胁迫、热处理和重金属等刺激等都可能引起 *CHH* 的表达显著升高^[3, 5, 9, 30],这与本实验的结果是相符的。室内水槽的水体较小,水质变化较大,易产生不良刺激引起河蟹仔蟹的应激反应,从而引起 *CHH* 基因的表达量显著升高。本实验中, *MIH*、*GIH* 以及 *CHH* 具有类似的基因表达模式,可能是因为这3个基因均来自于 *CHH* 神经多肽激素家族,因而具有相似的生物学功能^[8],同时也在一定程度上反映了这3个基因对河蟹的蜕壳生长具有协同调控的作用;而 *RXR* 基因的表达模式与 *GIH* 基因的表达模式完全相反,在 *GIH* 表达量很高的情况下, *RXR* 的表达量反而低,推测这两个基因对河蟹的蜕壳生长具有一定程度的拮抗作用。

本文通过分析不同养殖条件下、不同发育时期仔蟹的体质量变化以及蜕壳相关基因的表达情况,结果显示不同养殖环境对河蟹仔蟹的生长具有显著影响,揭示了仔蟹不同发育时期的生长规律并阐述了相关功能基因对仔蟹蜕壳、生长以及发育的协同调控作用。 *MIH*、*RXR* 基因的表达不受环境的影响,而 *CHH*、*EcR* 和 *GIH* 基因的表达与环境条件密切相关。 *MIH*、*GIH* 以及 *CHH* 对河蟹的蜕壳具有协同调控的作用,而 *RXR* 与 *GIH*

对河蟹的蜕壳具有一定程度的拮抗作用。

参考文献:

- [1] 王武, 王成辉, 马旭洲. 河蟹生态养殖: 第二章, 河蟹的生物学特性[M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2013: 44-48.
WANG W, WANG C H, MA X Z. Ecological cultivation of Chinese mitten crab [M]. 2nd ed. Beijing: Chinese Agricultural Press, 2013: 44-48.
- [2] 张列士. 河蟹的增养殖[J]. 水产科技情报, 2001, 28(1): 35-39.
ZHANG L S. Aquaculture of Chinese mitten crab [J]. Fisheries Science & Technology Information, 2001, 28(1): 35-39.
- [3] 申玉春, 陈作洲, 刘丽, 等. 盐度和营养对凡纳滨对虾蜕壳和生长的影响[J]. 水产学报, 2012, 36(2): 290-299.
SHEN Y C, CHEN Z Z, LIU L, et al. The effects of salinity and nutrition on molt and growth of *Litopenaeus vannamei* [J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(2): 290-299.
- [4] 朱小明, 李少菁. 甲壳动物幼体蜕皮的调控[J]. 水产学报, 2001, 25(4): 379-384.
ZHU X M, LI S J. Regulation of molting in crustacean larvae [J]. Journal of Fisheries of China, 2001, 25(4): 379-384.
- [5] BUCHHOLZ F, BUCHHOLZ C. Chapter six-growth and moulting in northern krill (*Meganctiphanes norvegica* Sars) [J]. Advances in Marine Biology, 2010, 57: 173-197.
- [6] CHUNG A C K, DURICA D S, HOPKINS P M. Tissue-specific patterns and steady-state concentrations of ecdysteroid receptor and retinoid-X-receptor mRNA during the molt cycle of the fiddler crab, *Uca pugilator* [J]. General and Comparative Endocrinology, 1998, 109(3): 375-389.
- [7] RIDDIFORD L M, CHERBAS P, TRUMAN J W. Ecdysone receptors and their biological actions [J]. Vitamins and Hormones, 2000, 60: 1-73.
- [8] 杨济芬, 朱冬发, 沈建明, 等. 甲壳动物高血糖激素家族生理功能研究进展[J]. 动物学杂志, 2009, 44(1): 151-158.
YANG J F, ZHU D F, SHEN J M, et al. Physiological significance of crustacean hyperglycemic hormone family [J]. Chinese Journal of Zoology, 2009, 44(1): 151-158.
- [9] MORRIS S, POSTEL U, MRINALINI, et al. The adaptive significance of crustacean hyperglycaemic hormone (CHH) in daily and seasonal migratory activities of the Christmas Island red crab *Gecarcoidea natalis* [J]. The Journal of Experimental Biology, 2010, 213(17): 3062-3073.
- [10] CHANG E S, PRESTWICH G D, BRUCE M J. Amino acid sequence of a peptide with both molt-inhibiting and hyperglycemic activities in the lobster, *Homarus americanus* [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1990, 171(2): 818-826.
- [11] KHAYAT M, YANG W J, AIDA K, et al. Hyperglycaemic hormones inhibit protein and mRNA synthesis in in vitro-incubated ovarian fragments of the marine shrimp *Penaeus semisulcatus* [J]. General and Comparative Endocrinology, 1998, 110(3): 307-318.
- [12] LIU L, LAUFER H, WANG Y J, et al. A neurohormone regulating both methyl farnesoate synthesis and glucose metabolism in a crustacean [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1997, 237(3): 694-701.
- [13] ZARUBIN T P, CHANG E S, MYKLES D L. Expression of recombinant eyestalk crustacean hyperglycemic hormone from the tropical land crab, *Gecarcinus lateralis*, that inhibits Y-organ ecdysteroidogenesis in vitro [J]. Molecular Biology Reports, 2009, 36(6): 1231-1237.
- [14] FANJUL-MOLES M L. Biochemical and functional aspects of crustacean hyperglycemic hormone in decapod crustaceans: review and update [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2006, 142(3/4): 390-400.
- [15] CHUNG J S, ZMORA N, KATAYAMA H, et al. Crustacean hyperglycemic hormone (CHH) neuropeptides family: functions, titer, and binding to target tissues [J]. General and Comparative Endocrinology, 2010, 166(3): 447-454.
- [16] DE KLEIJN D P, SLEUTELS F J G T, MARTENS G J M, et al. Cloning and expression of mRNA encoding prepro-gonad-inhibiting hormone (GIH) in the lobster *Homarus americanus* [J]. FEBS Letters, 1994, 353(3): 255-258.
- [17] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔCT} Method [J]. Methods, 2001, 25(4): 402-408.
- [18] 张堂林, 李钟杰. 中华绒螯蟹幼蟹蜕壳的生态学观察 [J]. 湖泊科学, 1999, 11(4): 333-337.
ZHANG T L, LI Z J. Ecological observation on molting of juveniles of the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* [J]. Journal of Lake Science, 1999, 11(4): 333-337.
- [19] 程建新, 宋学宏, 吴林坤, 等. 养殖水环境对中华绒螯蟹不同营养供给模式的响应 [J]. 水生生物学报, 2008, 32(5): 657-668.
CHENG X, SONG X H, WU L K, et al. Effects of feeding models on water quality for chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2008, 32(5): 657-668.
- [20] 洪美玲. 水中亚硝酸盐和氨氮对中华绒螯蟹幼体的毒性效应及维生素 E 的营养调节 [D]. 上海: 华东师范大学, 2007.
HONG M L. Toxicity of ambient nitrite and ammonia on *Eriocheir sinensis* juveniles and nutritional modulation of dietary VE [D]. Shanghai: East China Normal University, 2007.
- [21] 汪留全, 周婉华. 池养中华绒螯蟹幼蟹生长特性的初步

- 研究[J]. 水产学报, 1989, 13(1): 17-23.
- WANG L Q, ZHOU W H. The growth characteristics of juvenile of woolly handed crab (*Eriocheir sinensis*) cultivated in pond[J]. Journal of Fisheries of China, 1989, 13(1): 17-23.
- [22] 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.
- [23] 徐建荣, 沈颂东, 张加梅, 等. 环境条件对中华绒螯蟹大眼幼体蜕壳生长的影响[J]. 水产科学, 2006, 25(10): 505-508.
- XU J R, SHEN S D, ZHANG J M, et al. Influence of environment on molting and growth of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) Megalopa[J]. Fisheries Science, 2006, 25(10): 505-508.
- [24] 杨国梁, 罗坤, 孔杰, 等. 罗氏沼虾不同养殖条件下的生长和存活率相关分析[J]. 海洋水产研究, 2008, 29(3): 74-79.
- YANG G L, LUO K, KONG J, et al. Correlation of growth and survivorship for *Macrobrachium rosenbergii* in different culture conditions[J]. Marine Fisheries Research, 2008, 29(3): 74-79.
- [25] CHITTLEBOROUGH R G. Environmental factors affecting growth and survival of juvenile western rock lobsters *Panulirus longipes* (Milne-Edwards) [J]. Marine and Freshwater Research, 1975, 26(2): 177-196.
- [26] GUERIN J L, STICKLE W B. Effects of salinity gradients on the tolerance and bioenergetics of juvenile blue crabs (*Callinectes sapidus*) from waters of different environmental salinities[J]. Marine Biology, 1992, 114(3): 391-396.
- [27] LEFFLER C W. Some effects of temperature on the growth and metabolic rate of juvenile blue crabs, *Callinectes sapidus*, in the laboratory [J]. Marine Biology, 1972, 14(2): 104-110.
- [28] 张列士, 陆锦天. 中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 蜕壳和生长的研究进展[J]. 水产科技情报, 2001, 28(6): 246-250.
- ZHANG L S, LU J T. Advances in studies on molting and growth in Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* [J]. Fisheries Science & Technology Information, 2001, 28(6): 246-250.
- [29] CHAN S M, CHEN X G, Gu P L. PCR cloning and expression of the molt-inhibiting hormone gene for the crab (*Charybdis feriatus*) [J]. Gene, 1998, 224(1/2): 23-33.
- [30] 李莉. 高血糖激素(CHH)在对虾渗透调节和血糖代谢中调控机制的初步研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.
- LI L. Study on Crustacean hyperglycemia hormone (CHH) modulates the osmoregulation and Glucose metabolism of *Litopenaeus vannamei* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2011.