

文章编号: 1674-5566(2024)05-1106-14

DOI: 10.12024/jsou.20231104347

水体中添加乳酸钙对中华绒螯蟹生长、蜕壳、钙沉积和水质指标的影响

黄俊杰^{1,2,3}, 朱筛成^{1,2,3}, 马天利^{1,2,3}, 蒋栋梁⁴, 成永旭^{1,2,3}

(1. 上海海洋大学 上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 农业农村部稻渔综合种养生态重点实验室, 上海 201306; 3. 上海海洋大学 农业农村部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306; 4. 河南金丹乳酸科技股份有限公司, 河南 郸城 477150)

摘要: 为研究水体中添加乳酸钙对中华绒螯蟹幼蟹生长、蜕壳及体内钙沉积的影响, 本研究分别在淡水中添加0、218、436和654 mg/L的乳酸钙, 使水体中含有45.6、84.4、123.2和163.6 mg/L的钙离子(分别记为1#~4#组), 对初始体质量为(4.78±0.51) g的中华绒螯蟹雌性幼蟹进行为期90 d(经历2个完整蜕壳周期)的养殖实验。结果表明:(1)随着水体乳酸钙浓度的增加, 幼蟹的成活率显著上升;(2)随水体乳酸钙含量增加, 第一次蜕壳后体质量、体质量增长率、特定生长率和肝胰腺指数均呈上升趋势, 但差异不显著; 而第二次蜕壳后幼蟹体质量、壳长和壳宽增长率均随着水体乳酸钙添加显著升高, 其中3#组和4#组显著高于1#组;(3)添加乳酸钙对蜕壳间隔无显著差异, 但可显著降低幼蟹的残肢率;(4)在钙沉积方面, 添加乳酸钙可以显著提高幼蟹第一次蜕壳和第二次蜕壳阶段中血淋巴钙含量以及第一次蜕壳阶段幼蟹肌肉中的钙含量;(5)乳酸钙含量的增加可显著提高 *es EcR2* 和 *es RXR* 基因的表达丰度;(6)添加乳酸钙对水体pH、氨氮和亚硝酸盐无显著影响, 而硬度和碱度随着乳酸钙含量增加而显著上升。综上, 水体添加654 mg/L乳酸钙可提高幼蟹成活率、生长性能、组织中钙沉积和蜕壳相关基因表达丰度, 并能降低幼蟹蜕壳后的残肢率。

关键词: 中华绒螯蟹; 乳酸钙; 生长性能; 蜕壳; 钙沉积

中图分类号: S 966.16 **文献标志码:** A

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*), 俗称河蟹, 因其营养丰富和独特的口味深受消费者喜爱, 随着消费需求的不断上升和繁育养殖技术的进步, 中华绒螯蟹已成为我国水产养殖业重要的养殖对象之一^[1-2]。2022年我国中华绒螯蟹的年产量达到81.5万t, 产值超过500亿元^[3]。蜕壳是中华绒螯蟹生长过程中的一种重要的生理现象, 从蚤状幼体生长到成蟹需要经历约19次蜕壳^[4], 但刚完成蜕壳时是其最脆弱的阶段, 因其外骨骼尚未硬化, 无法抵御细菌威胁和其他生物蚕食, 这是导致其存活率低的主要原因之一^[5]。此外, 蜕壳不顺利也常导致中华绒螯蟹附肢脱落。有研究表明, 断肢的中华绒螯蟹在后续的防御、捕获、进食

能力和免疫力方面大大降低^[6-7], 且需要消耗更多的能量用于断肢的重生而非用于生长^[7]。所以, 良好的蜕壳状态对其后续体质量的增加和健康状况都起着显著的影响^[8]。因此, 提高中华绒螯蟹蜕壳成功率对提高中华绒螯蟹产量和经济效益具有重要的意义。

钙离子是虾蟹外壳硬化过程中的关键离子^[9], 在蜕壳过程中, 甲壳动物会失去体内大约95%的钙^[10], 在蜕壳后期, 甲壳动物便进入快速矿化期, 在此阶段, 甲壳动物一方面需要调动蜕壳前储存在肝胰腺和血液中的钙使其沉积在新形成的表皮中^[11-12], 另一方面从水环境中直接吸收钙离子以加速新壳的硬化^[13]。因此, 在水体中

收稿日期: 2023-11-16 修回日期: 2024-03-09

基金项目: 财政部和农业农村部国家产业技术体系建设项目(CARS-48)

作者简介: 黄俊杰(1998—), 男, 硕士研究生, 研究方向为甲壳动物营养生理。E-mail: 1252478846@qq.com

通信作者: 成永旭, E-mail: yxcheng@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

补充钙离子是非常重要的环节。在中华绒螯蟹养殖过程中,许多养殖户在中华绒螯蟹蜕壳前后定期向水体泼洒含钙制剂。然而目前含钙制剂种类繁多,且泼洒钙的量也主要凭经验,并无系统的研究报道。鉴于此,本研究以乳酸钙作为主要钙源,通过向水体中添加不同浓度的乳酸钙,研究其对中华绒螯蟹幼蟹生长、存活、蜕壳、组织中钙沉积以及对水质的影响,旨在探究中华绒螯蟹幼蟹阶段水体中适宜的乳酸钙泼洒量,以期为今后含钙制剂的使用和中华绒螯蟹养殖技术提高提供理论依据和实际参考。

1 材料与方法

1.1 实验用蟹及实验设计

实验用幼蟹于2023年3月取自上海海洋大学崇明基地幼蟹养殖池塘,从中挑选144只四肢健全且活力较好,处于蜕壳间期,初始体质量为4~6 g的幼蟹用于养殖实验。为了避免不同性别

的差异,因此本实验只采用雌蟹进行正式实验。

本实验共设置4个钙离子组,实验初分别向养殖水体中添加0、218、436和654 mg/L的乳酸钙(河南金丹乳酸科技股份有限公司),使得水体最终钙离子含量为45.6、84.4、123.2和163.6 mg/L,分别记为1#、2#、3#和4#组,具体添加量和实测值如表1所示。每个钙离子组设置3个重复,每个重复组有12只幼蟹。

养殖实验在室内12个循环聚氯乙烯(PVC)水槽(长×宽×高=2.9 m×0.8 m×0.3 m)中进行,在每个水槽中放置12个四周和底部有小孔的单养盒子(长×宽×高=32 cm×21 cm×17.5 cm,水深12 cm),共144个盒子,将144只蟹随机放入盒中单独养殖,在盒底放置瓦片作为隐蔽物。所有实验幼蟹在养殖盒暂养直至完成蜕壳,并待其3 d后新壳变硬后开始正式实验,并记录此时幼蟹的体质量以及蜕壳日期。待90%幼蟹完成第3次蜕壳(即2个完整的蜕壳周期)即停止实验。

表1 实验浓度设计
Tab. 1 Experimental concentration design

组别 Group	添加物 Additive	理论添加Ca ²⁺ 浓度 Theoretical Ca ²⁺ concentration/(mg/L)	水体实际Ca ²⁺ 浓度 Actual Ca ²⁺ concentration in water/(mg/L)
1#组 Group 1#	无	0	45.6
2#组 Group 2#	乳酸钙	40	84.4
3#组 Group 3#	乳酸钙	80	123.2
4#组 Group 4#	乳酸钙	120	163.6

1.2 养殖管理

在整个养殖过程中,每日18:00左右投喂商业饲料(浙江澳华饲料有限公司幼蟹料,钙含量≈1.51%),投喂为中华绒螯蟹总体质量的1.5%~3.0%,根据水温 and 摄食等情况灵活调整投喂量,投喂后3 h约21:00左右观察摄食情况,并于次日上午9:00左右吸走残饵和粪便,同时检查幼蟹蜕壳和死亡情况,做好相关记录。养殖期间,24 h充氧,采用40 W日光灯作为光源(12 h光照+12 h黑暗),每天上午用温度计测定养殖用水温度,每周测定一次水质(亚硝酸盐、氨氮、pH),水质指标:pH 7.0~9.0;溶氧>4 mg/L;氨氮<0.5 mg/L;

亚硝酸盐<0.15 mg/L。实验期间24 h不间断增氧,实际亚硝态氮和氨氮含量均低于0.05 mg/L,溶氧高于9 mg/L。

1.3 样品和数据的采集

1.3.1 水样的采集与测定

每隔7 d使用哈希便携式水质分析仪(HQ30d, HACH,)检测水体的pH和溶氧,使用水质测试盒(北京桑普水博士有限公司)检测水体的氨氮和亚硝态氮含量;每隔15 d从实验水槽中取50 mL水样进行硬度和碱度的测定,总硬度和总碱度的测定参照国家标准(GB 7477—87和GB 12763.4—91)。

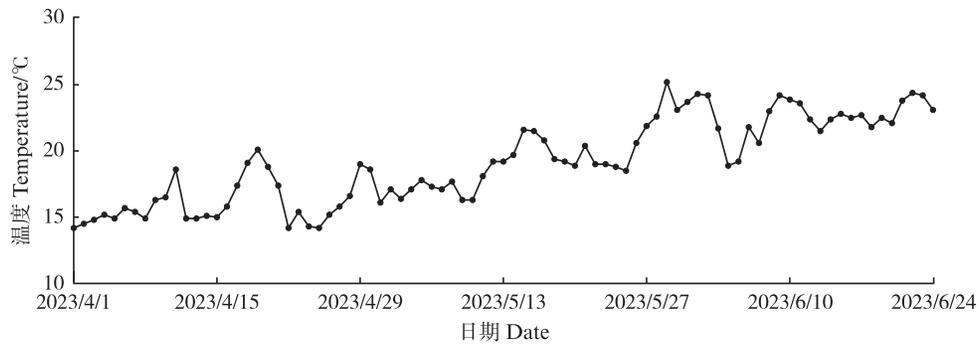


图1 实验期间养殖水体温度日变化情况

Fig. 1 Diurnal variation of aquaculture water temperature during the experiment

1.3.2 样品和数据的采集

实验期间,每天观察实验蟹蜕壳情况,并记录每次蜕壳蟹的编号、蜕壳日期和幼蟹蜕壳后附肢残缺情况,用于计算蜕壳后的存活率(Survival rate, SR)、蜕壳率(Molt rate, MR)、蜕壳间隔(Intermolt duration, ID)和残肢率(Limb loss rate, LLR)。当幼蟹每次完成蜕壳后3 d,待其甲壳变硬,将其体表水分擦干后用电子天平(精准度=0.01 g)测量体质量,用游标卡尺测量壳长和壳宽,据此计算各组中华绒螯蟹的体质量增长率(Weight gain rate, WGR)、特定生长率(Specific growth rate, SGR)、壳长增长率(Carapace length growth rate, CLGR)和壳宽增长率(Carapace width growth rate, CWGR)。每次蜕壳后,每个重复组分别采样3只(即每个乳酸钙组采样9只)蜕壳后3 d的蟹,将幼蟹放在冰上麻醉后,用1 mL的无菌注射器从实验蟹的第三步足基部抽取1 mL血淋巴装入1.5 mL离心管中于-40 °C保存。随后沿蟹壳侧面将蟹壳与躯体分离,迅速解剖取出中华绒螯蟹Y器官经液氮速冻后保存于-80 °C冰箱中用于后续总RNA提取。随后解剖取出肝胰腺并用电子天平准确称重用于计算肝胰腺指数(Hepatosomatic index, HSI)。再用剪刀和镊子刮取肌肉,将肝胰腺、肌肉和蟹壳分别装入自封袋中于-40 °C保存用于组织中钙含量测定。各组幼蟹的成活率(SR)、体质量增长率(WGR)、特定生长率(SGR)、壳长增长率(CLGR)、壳宽增长率(CWGR)、蜕皮间隔(ID)、蜕壳率(MR)、残肢率(LLR)和肝胰腺指数(HSI)计算公式:

$$S_R = N_2/N_1 \times 100\% \quad (1)$$

$$W_{GR} = (M_2 - M_1)/M_1 \times 100\% \quad (2)$$

$$S_{GR} = 100\% \times (\ln M_2 - \ln M_1)/T \quad (3)$$

$$C_{LGR} = 100\% \times (L_2 - L_1)/L_1 \quad (4)$$

$$C_{WGR} = 100\% \times (W_2 - W_1)/W_1 \quad (5)$$

$$M_R = N_3/N_1 \times 100\% \quad (6)$$

$$I_D = D_n - D_{n-1} \quad (7)$$

$$L_{LR} = 100\% \times N_4/N_1 \quad (8)$$

$$H_{SI} = M_H/M_2 \times 100\% \quad (9)$$

式中: S_R 为存活率,%; N_1 为各组幼蟹初始数量,只; N_2 为实验结束时各组幼蟹成活数量和已经采样蟹数量之和,只; W_{GR} 为体质量增长率,%; M_2 为蜕壳硬化3 d后蟹的体质量,g; M_1 为蜕壳前蟹记录体质量,g; S_{GR} 为特定生长率,%/d; C_{LGR} 为壳长增长率,%; L_1 为蜕壳前蟹记录壳长,cm; L_2 为蜕壳硬化3 d后蟹壳长,cm; C_{WGR} 为壳宽增长率,%; W_1 为蜕壳前蟹记录壳宽,cm; W_2 为蜕壳硬化3 d后蟹壳宽,cm; I_D 为蜕壳间隔,d; D_n 为第n次完成蜕壳时间,d; D_{n-1} 为第n-1次完成蜕壳时间,d; M_R 为蜕壳率,%; N_3 为完成蜕壳蟹数量; L_{LR} 为残肢率,%; N_4 为蜕壳后附肢残缺蟹数量,只; H_{SI} 为肝胰腺指数; M_H 为肝胰腺质量,g。

1.3.3 甲壳、肝胰腺、肌肉以及血液中钙沉积的测定

使用IKA微型匀浆器(德国IKA公司)将解冻后的血淋巴样品匀浆,随后将匀浆液离心(12 000 r/min,4 °C, 20 min),收集上清液,采用电解质分析仪(K-Lite 5,广东梅州康立高科有限公司生产)测定血清钙离子含量。肌肉、肝胰腺和蟹壳经冷冻干燥后粉碎,随后将其交予上海疾控中心使用电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)测定各组织中钙含量。

1.3.4 实时荧光定量PCR(qRT-PCR)

由于幼蟹Y器官样品量较少,为了满足分析测试需求,每个重复组随机取3只蟹Y器官合并一个样品,即每个乳酸钙组最终有3个样本。用Trizol提取Y器官的总RNA,通过琼脂糖凝胶电

泳和紫外分光光度计法分别检测 RNA 的完整度和纯度。各取 100 ng 总 RNA 为反转录模板,采用反转录试剂盒(Cat. AG11705,湖南艾科瑞生物工程有限公司)进行 cDNA 合成,并保存在 -20°C 用于 qRT-PCR 分析。

实验中以 β -actin 作为 qRT-PCR 的内参基因,中华绒螯蟹蜕壳相关基因 *EcR* 和 *RXR* 的引物分别参考潘杰等^[14]和王瑶等^[15],实验用引物均委托上海生工生物工程有限公司合成(表 2)。根据 qRT-PCR 试剂盒(Cat. AG11746)说明书,将模板 cDNA 梯度稀释后进行标准曲线扩增。当无非特异性扩增,目标基因和内参基因的扩增效率在 95%~105%。反应体系: 2 \times SYBR Green pro Taq HS Premix IV 10 μL , cDNA (10 ng/ μL) 2 μL , 上下游引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 0.4 μL , ddH₂O 7.8 μL 。反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s; 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 40 个循环。采用 Bio-Rad 荧光定量 PCR 分析仪(CFX-384, Bio-Rad, The United States of America)测定肝胰腺样品中各基因的表达量。每个样品均重复 3 次,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法对蜕壳相关基因的相对表达量进行分析。

表 2 荧光定量 PCR 的引物序列

Tab. 2 Primers for qRT-PCR determination of the studied genes

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence	参考文献 Reference
<i>Es EcR2-F</i>	CCCATTAGTCCATGTAAATCCA	潘杰等 ^[14]
<i>Es EcR2-R</i>	GCATGGCTGACATAGGAGAC	潘杰等 ^[14]
<i>Es RXR-F</i>	CCTCCGCTCCATCGTCTAT	王瑶等 ^[15]
<i>Es RXR-R</i>	GGTGCCTGTGTACTCTCTCCA	王瑶等 ^[15]
β -actin-F	ACCTCGGTTCTATTTTGTCGG	潘杰等 ^[14]
β -actin-R	ATGCTTTCGCAGTAGTTCGTC	潘杰等 ^[14]

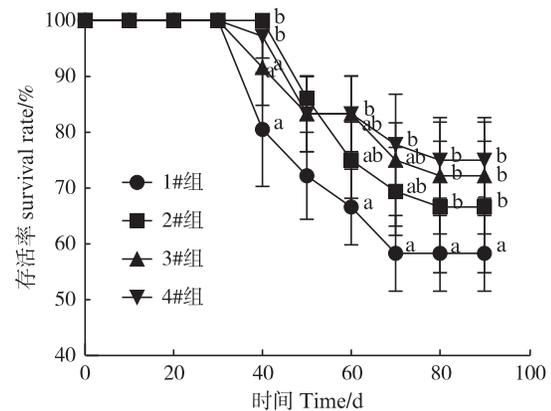
1.4 数据分析

使用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。数据表示为平均值 \pm 标准差,用 Levene 法进行方差齐性检验,当数据不满足齐性方差时,对百分比数据进行反正弦或者平方根处理,随后采用 One way-ANOVA 对实验结果进行方差分析,采用 Tukey's-b(K)法进行多重比较;若数据转换后仍不满足齐性方差时,采用 Games-Howell 非参数检验进行多重比较,取 $P < 0.05$ 为差异显著。在 Graphpad 软件上绘制相关图表。

2 结果

2.1 水体中添加乳酸钙对中华绒螯蟹幼蟹成活的影响

由图 2 可知,各组幼蟹在前 30 d 时成活率均为 100%,从第 40 天开始,整体上各组幼蟹成活率均出现下降趋势,且各组成活率出现显著差异 ($P < 0.05$)。其中在 40~50 d 时,2#组和 4#组幼蟹成活率显著高于 1#组(对照组),而从 60 d 至实验结束时,随着水体乳酸钙添加量增加,幼蟹成活率显著增加,在 4#组的幼蟹存活率最高(75%)显著高于对照组(58.33%, $P < 0.05$)。



同列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$).

图 2 水体中添加乳酸钙对中华绒螯蟹幼蟹成活的影响
Fig. 2 Effect of adding calcium lactate to water on the survival of juvenile *E. sinensis*

2.2 水体中添加乳酸钙对中华绒螯蟹幼蟹生长的影响

水体中添加不同浓度乳酸钙对中华绒螯蟹幼蟹生长性能的影响见图 3~5。在第一次蜕壳完整蜕壳阶段,各组幼蟹蜕壳后的终末体质量、体质量增长率、特定生长率、壳长和壳宽增长率以及肝胰腺指数均随着乳酸钙添加呈现轻微上升的趋势,但是差异不显著 ($P > 0.05$)。第二次完整蜕壳阶段,随着水体乳酸钙添加,幼蟹蜕壳后的终末体质量、壳长和壳宽增长率显著升高 ($P < 0.05$),其中 3#组和 4#组显著高于 1#组 ($P < 0.05$)。就 2 个完整蜕壳周期(整个实验周期)而言,各组幼蟹最终的体质量增长率和壳长增长率随着水体乳酸钙添加量增加而显著升高 ($P < 0.05$),且最高值均在 3#组。

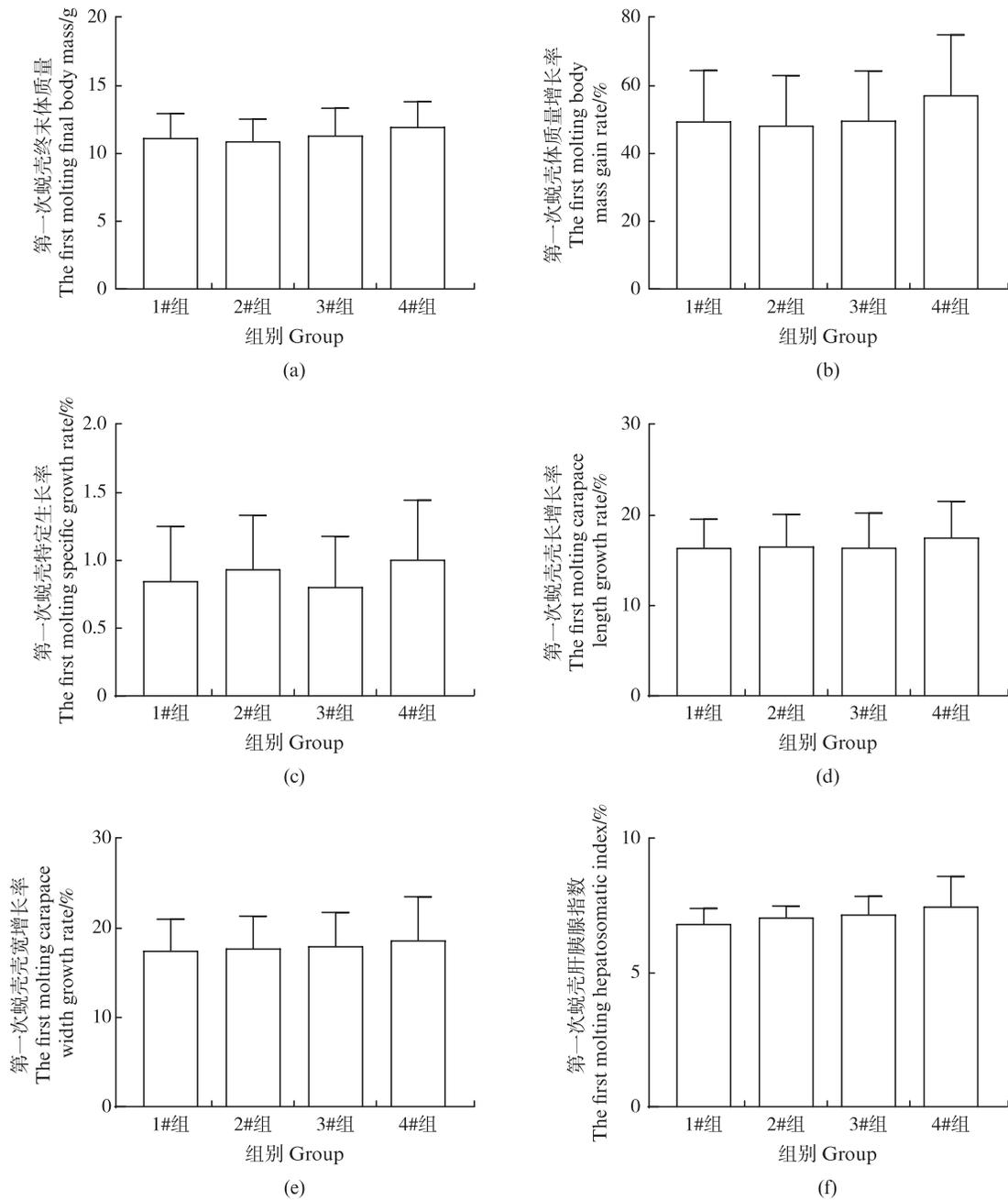
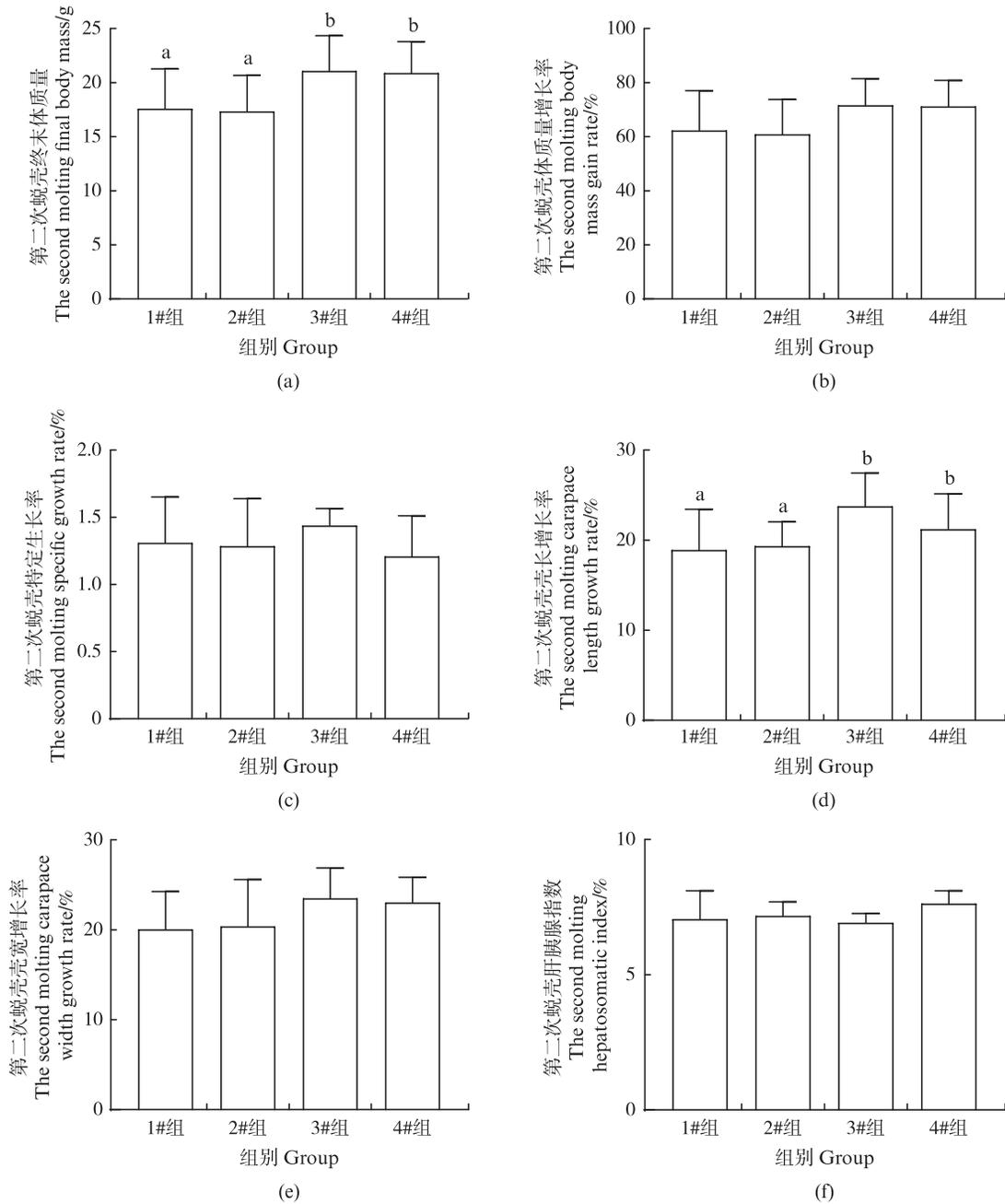


图3 水体中添加乳酸钙对中华绒螯蟹第一次蜕壳周期幼蟹生长性能的影响

Fig. 3 Effects of adding calcium lactate to water on the growth performance of the first molting juvenile *E. sinensis*

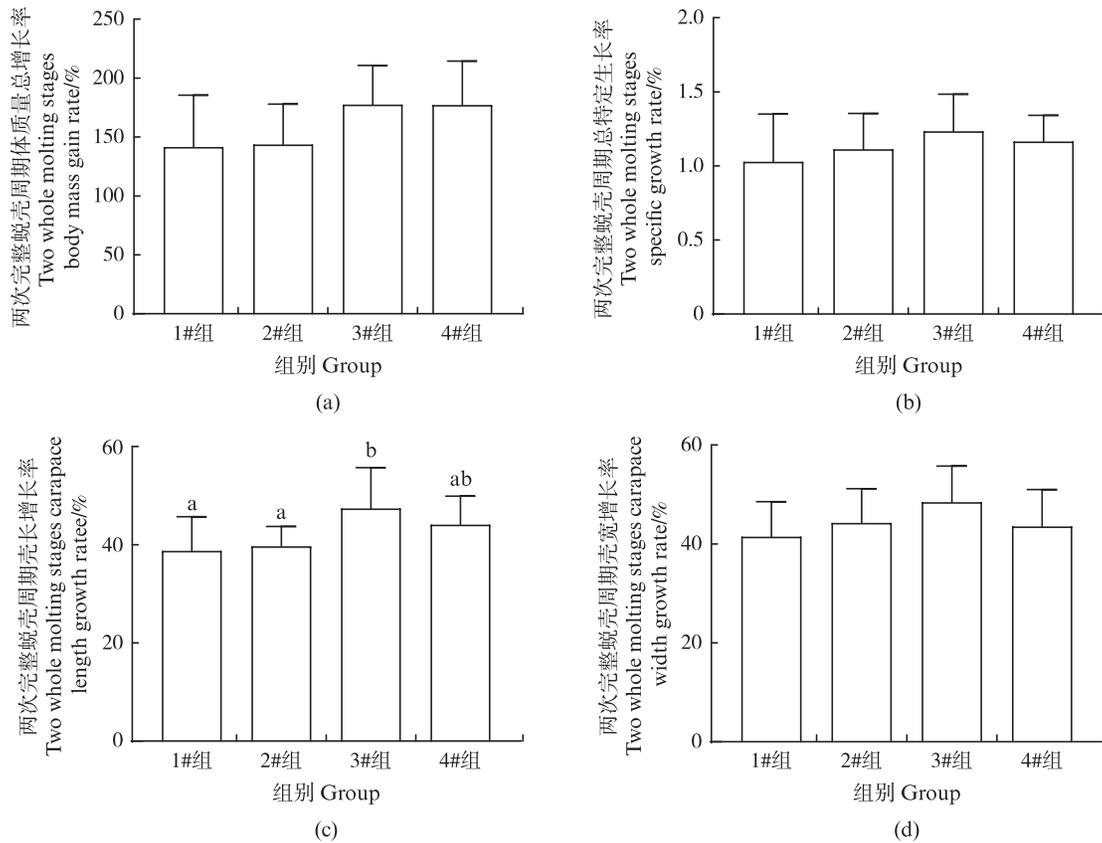


方柱上不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters in the columns indicate significant differences ($P < 0.05$).

图4 水体中添加乳酸钙对中华绒螯蟹第二次蜕壳周期幼蟹生长性能的影响

Fig. 4 Effects of adding calcium lactate to water on the growth performance of the second molting juvenile *E. sinensis*



方柱上不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。 Different lowercase letters in the columns indicate significant differences ($P < 0.05$).

图5 水体中添加乳酸钙对中华绒螯蟹两次完整蜕壳周期幼蟹生长性能的影响

Fig. 5 Effects of adding calcium lactate to water on the growth performance of the two whole molting stages juvenile *E. sinensis*

2.3 水体中添加乳酸钙对中华绒螯蟹幼蟹蜕壳的影响

由图6可知,在幼蟹在第一次蜕壳阶段的蜕壳间隔为27~54 d,在第二次蜕壳阶段的蜕壳间隔为25~52 d,但是乳酸钙的添加对幼蟹第一次蜕壳阶段、第二次蜕壳阶段以及2次蜕壳的总蜕壳间隔均无显著影响 ($P > 0.05$)。

由图7可知,随着水体乳酸钙添加,幼蟹在第一次蜕壳阶段和第二次蜕壳阶段的残肢率均显著降低 ($P < 0.05$)。其中在第一次蜕壳阶段,添加乳酸钙组(2#、3#和4#组)的幼蟹残肢率显著低于1#组和2#组,且4#组幼蟹残肢率为0%。在第二次蜕壳阶段,3#和4#组幼蟹蜕壳后的残肢率也均为0%,显著低于1#组和2#组,但1#组和2#组之间没有显著差异。

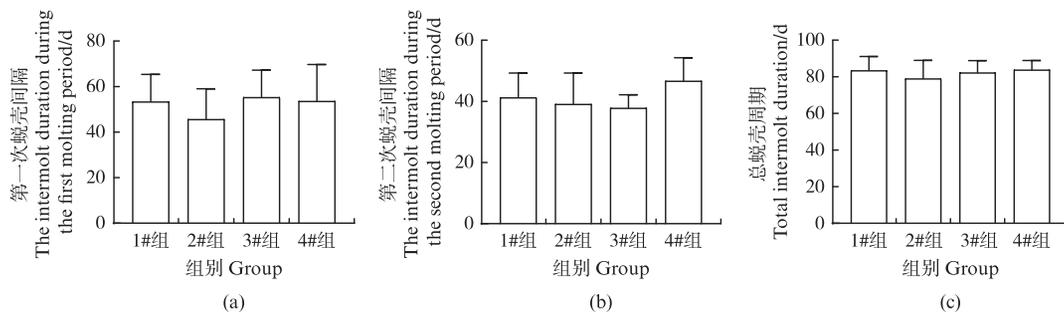
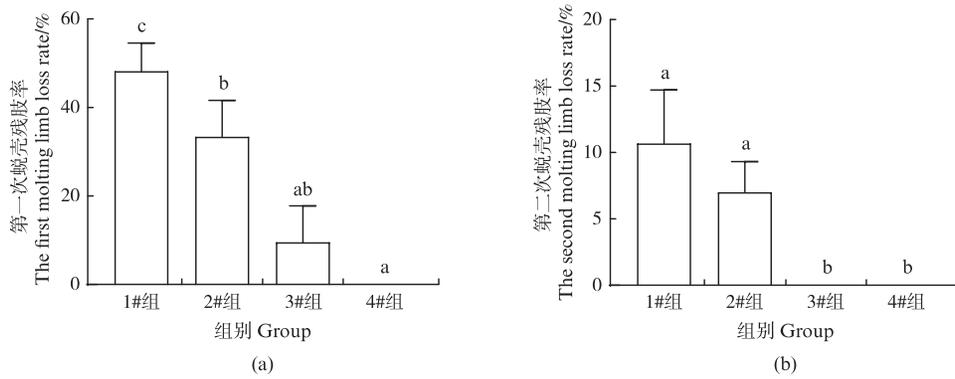


图6 水体中添加乳酸钙对中华绒螯蟹幼蟹蜕壳间隔的影响

Fig. 6 Effects of adding calcium lactate to water on intermolt duration of juvenile *E. sinensis*



方柱上不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图7 水体中添加乳酸钙对中华绒螯蟹幼蟹残肢率影响

Fig. 7 Effects of adding calcium lactate to water on limb loss rate of juvenile *E. sinensis*

2.4 水体中添加乳酸钙对中华绒螯蟹幼蟹组织中钙沉积的影响

水体中添加乳酸钙对中华绒螯蟹幼蟹血淋巴、肌肉、肝胰腺和头胸甲中钙沉积影响如图8所示。就血淋巴而言(图8a和图8b),在第一次蜕壳和第二次蜕壳阶段幼蟹血淋巴中钙离子含量均随着水体乳酸钙含量添加而显著增加,且4#组显著高于1#组($P < 0.05$)。就肌肉而言(图8c和图8d),在第一次蜕壳时幼蟹肌肉中钙含量显著上升,且4#组显著高于其他组($P < 0.05$),而在第二次蜕壳时各组无显著差异($P > 0.05$)。就肝胰腺而言(图8e和图8f),各组幼蟹在第一次蜕壳和第二次蜕壳阶段,其肝胰腺中钙含量均无显著差异($P > 0.05$)。就头胸甲而言(图8g和图8h),在第一次蜕壳阶段,各组幼蟹头胸甲中的钙含量随乳酸钙含量增加呈现明显上升趋势,在第二次蜕壳阶段各组幼蟹头胸甲中的钙含量无显著差异($P > 0.05$)。

2.5 水体中添加乳酸钙对中华绒螯蟹幼蟹蜕壳相关基因表达的影响

荧光定量结果显示,水体中添加乳酸钙对幼蟹Y器官中 *es EcR2* 和 *es RXR* 基因表达均有显著促进作用(图9a和图9b)。就 *es EcR2* 基因而言,4#组幼蟹Y器官中 *es EcR2* 表达量显著高于1#组($P < 0.05$),而其余各组无显著差异;就 *es RXR* 基因而言,3#组和4#组幼蟹Y器官中 *es RXR* 表达量显著高于对照组($P < 0.05$)。

2.6 水体中添加乳酸钙对水质影响

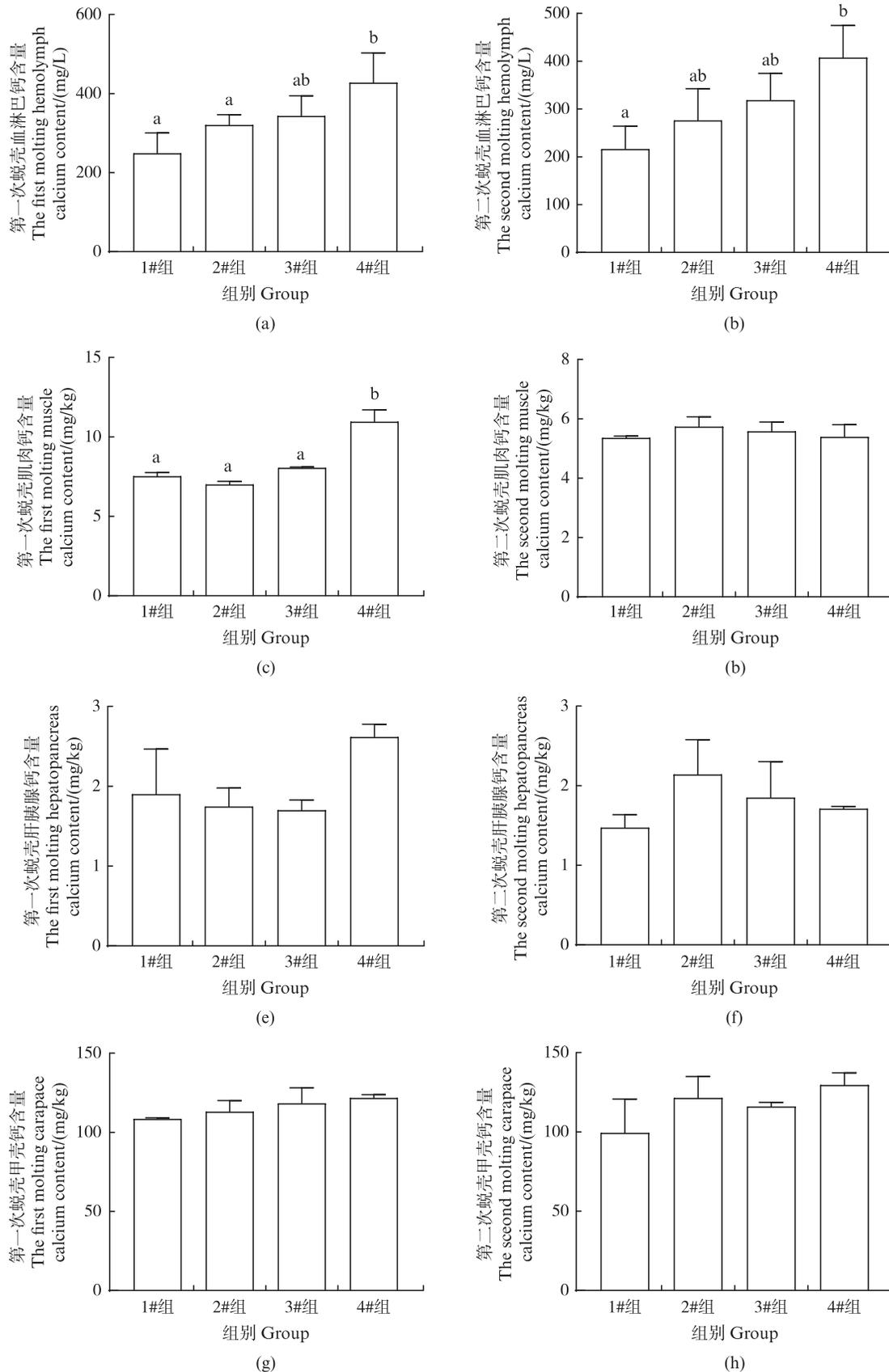
由图10可知,添加不同含量乳酸钙对水体中

pH变化无显著影响,均在8.1~8.8,且均在合适中华绒螯蟹养殖的pH范围之内。而水体中添加乳酸钙显著增加了水体的硬度和碱度,水体硬度由144 mg/L上升至384 mg/L(图10b),碱度由183 mg/L上升至588 mg/L(图10c)。

3 讨论

3.1 水体中添加乳酸钙对幼蟹成活的影响

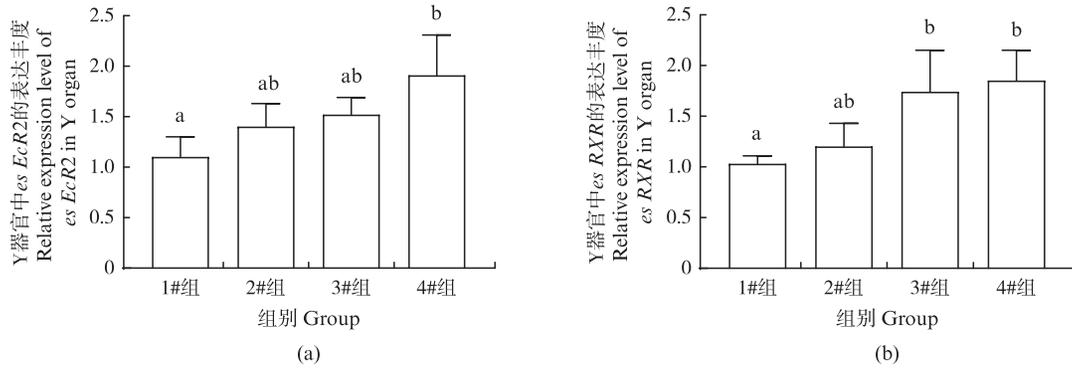
钙是水生动物生命活动中必需的元素,是构成骨、齿、鳞及甲壳的主要成分,在组织中参与肌肉收缩、血液凝固、神经传导、渗透压调节、某些酶的激活以及细胞膜的完整性和通透性的维持等生理作用^[16-17]。因此,钙的摄入对机体健康有至关重要的作用^[18]。在本研究中,我们发现在养殖开始30 d前均未发生死亡,从30~80 d时开始死亡数量开始增加,这可能是30~80 d时中华绒螯蟹陆续经历了2次蜕壳引起的。有研究表明,甲壳动物大部分死亡发生在蜕皮期间以及蜕皮后一周内,由于无法完成蜕壳或是无法完成新壳的硬化而死亡^[19]。而随着乳酸钙浓度的升高,中华绒螯蟹存活率也逐级上升,说明乳酸钙能够提高中华绒螯蟹蜕壳和硬化成功率,从而提高了中华绒螯蟹的成活率。这与之前对水蚤(*Daphnia*)^[20]、库氏矛螯虾(*Paranephrops zealandicus*)^[21]、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)^[19]的研究结果一致,表明了钙的添加对甲壳动物的存活率具有正向影响。



方柱上不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。
 Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图8 水体中添加乳酸钙对中华绒螯蟹幼蟹组织中钙沉积的影响

Fig. 8 Effects of adding calcium lactate to water on calcium deposition in juvenile *E. sinensis*



方柱上不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。 Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图9 水中添加乳酸钙对中华绒螯蟹幼蟹蜕壳相关基因表达丰度的影响

Fig. 9 Effects of adding calcium lactate to water on the expression of molting related genes in juvenile *E. sinensis*

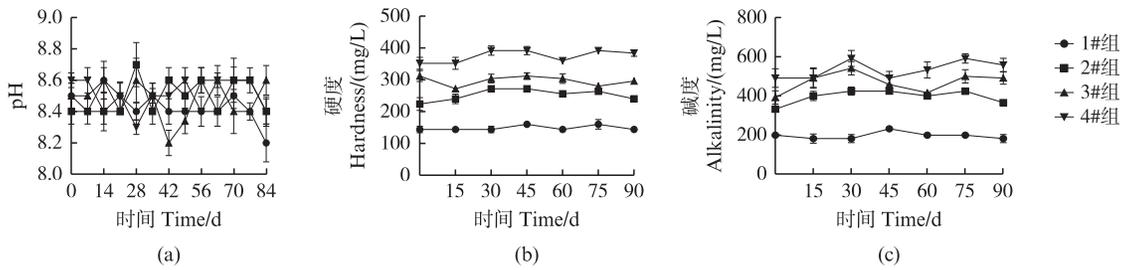


图10 水中添加乳酸钙对水体pH、硬度和碱度的影响

Fig. 10 Effects of adding calcium lactate on pH, hardness and alkalinity in cultural water

3.2 水中添加乳酸钙对幼蟹生长和蜕壳的影响

中华绒螯蟹的生长伴随着蜕壳现象的发生而实现,由于蜕壳过程中中华绒螯蟹会丢失大量的矿物质^[22],因此,外源钙的补充对中华绒螯蟹的生长具有重要的作用。本研究发现在第一次蜕壳阶段,幼蟹蜕壳后的体质量、体质量增长率(WGR)和特定生长率(SGR)随乳酸钙添加呈上升趋势,但差异不显著。至第二次蜕壳阶段,幼蟹的蜕壳后体质量、WGR和SGR随乳酸钙增加而显著上升。这表明乳酸钙添加对中华绒螯蟹的生长有明显促进作用,且随着钙离子处理时间越长,促进效果越显著。这可能是随着乳酸钙添加使得水体渗透压逐渐上升,更接近中华绒螯蟹体内的渗透压,从而降低了中华绒螯蟹渗透调节的能量消耗,这意味着更多的营养物质可用于幼蟹的生长发育^[23]。在日本沼虾(*Macrobrachium nipponensis*)^[24]和凡纳滨对虾^[19]中也发现类似的结果。

蜕壳过程对中华绒螯蟹幼蟹的生长起着至关重要的作用。然而蜕壳是一个非常耗能的过程,需要积累足够多的能量才能完成一次良好的蜕壳^[25]。本研究结果表明,添加乳酸钙后,无

论是第一次蜕壳还是第二次蜕壳,添加乳酸钙组中华绒螯蟹的残肢率均显著优于淡水组,尤其是乳酸钙添加量在436 mg/L及以上后基本无蜕壳残肢现象。这表明乳酸钙对中华绒螯蟹蜕壳及附肢完整性具有显著的正向作用。而肢体再生是一个能量投入的过程,需要消耗大量自身营养物质^[7],这也是乳酸钙添加组中华绒螯蟹生长性能好于对照组的原因之一。且有研究表明,肢体残缺后更容易受到病菌感染,食欲下降,最终导致高死亡率^[26],正与本实验中对照组的死亡率显著高于乳酸钙添加组的研究结果一致。

中华绒螯蟹蜕壳主要受到Y器官分泌的蜕皮激素影响^[27],而在甲壳动物中蜕皮激素主要依靠于蜕皮激素受体(Ecdysone receptor, *EcR*)和维甲类X受体(Retinoid X receptor, *RXR*)组成复合体后进一步指导调控下游*E74*和*E75*等基因的转录,从而调节甲壳动物的生长和蜕壳过程^[28]。本实验通过采集中华绒螯蟹幼蟹Y器官进行荧光定量验证,水中添加乳酸钙对幼蟹Y器官中*es EcR2*和*es RXR*基因表达均有显著促进作用。因此,水中添加乳酸钙可以通过上调*EcR*和*RXR*基因表达来提高中华绒螯蟹幼蟹的蜕壳成功率。

3.3 水体中添加乳酸钙对幼蟹组织中钙沉积的影响

外骨骼的快速矿化是甲壳动物蜕壳过程中重要的生理现象,主要发生在蜕皮后期阶段,此阶段体内各组织中的矿物质含量会进行重构^[22,29]。有报道认为,甲壳动物外骨骼中的钙会从壳中溶解并通过外表皮进入到血淋巴中,大部分转移到组织和器官等进行临时储存以便后来沉积到新形成的外骨骼中^[30]。血淋巴是中华绒螯蟹体内钙离子转运的主要运输介质,因此,其含量的变化是中华绒螯蟹体内钙沉积和转运的重要指标。在本实验中,我们通过向水中添加乳酸钙来单独改变水中的钙离子浓度。结果表明,中华绒螯蟹的血液中的钙离子含量随着乳酸钙添加量的增加而显著上升,特别是在654 mg/L乳酸钙组,其血液中的钙离子浓度显著高于淡水组。前期对中华绒螯蟹的研究中发现,随着水体盐度和钙离子含量的升高,中华绒螯蟹机体会增加对水中钙离子的吸收^[31]。这些结果都表明外界钙离子的添加可以显著提高中华绒螯蟹血液中钙离子的浓度。但是也有一些其他物种不同,如凡纳滨对虾^[32]和罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)^[33],它们血液钙含量不会随着外界盐度和钙离子含量的改变而改变,这可能是因为不同物种之间钙离子调节机制上存在差异,导致它们对环境条件的响应不同。

肝胰腺是甲壳动物负责代谢和储存的器官,为了形成新的甲壳,将会消耗大量肝胰腺中所储存的钙^[10],从而使肝胰腺中钙含量急剧减少。本实验中,第一次和第二次蜕壳后肝胰腺钙含量均差异不大且含量极少,仅为2 mg/g左右,这可能是本研究采样时中华绒螯蟹处于蜕皮间期的早期阶段,此时肝胰腺中储存的钙离子刚被转移至外骨骼中沉积。戚常乐等^[34]研究也发现,蜕壳后期和蜕壳前期相比,肝胰腺中钙离子含量极显著降低,由8 mg/g降低至2 mg/g,与本研究的结果类似。徐宾朋等^[35]也在对拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)的研究中发现,在拟穴青蟹蜕壳后期B期肝胰腺钙含量仅为5.65 mg/g,和蜕壳期峰值差十倍以上。表明在蜕壳后期,中华绒螯蟹肝胰腺中钙流向了甲壳形成新的体壁后再开始吸收环境中的钙,形成一个新的平衡。

同样地,在本实验中,第一次蜕壳后肌肉钙

含量随着乳酸钙含量增加而显著上升,特别是654 mg/L乳酸钙组显著高于淡水组,但是第二次蜕壳后肌肉钙含量则没有差异,可能是第一次蜕壳时幼蟹体质量较小,外骨骼矿化所需钙的量较少,而第二次蜕壳后体质量增大,外骨骼矿化所需钙含量较前一次蜕壳高,体内的存储的钙离子主要用于外骨骼的矿化,从而导致各组肌肉中沉积的钙含量区别不大。

甲壳动物外骨骼主要成分有几丁质、碳酸钙以及蛋白质,还有一些微量复合物构成^[35],是维持体型、防御威胁和进行机体运动的必需条件,因此,一个足够坚硬的外骨骼可以很好的协助甲壳动物生长发育。在本实验中发现随着乳酸钙的添加,甲壳中钙含量呈现上升趋势。这说明乳酸钙的添加对中华绒螯蟹甲壳的矿化具有促进作用。这一发现和PERRY等^[36]在对蓝蟹(*Callinectes sapidus*)的研究结果相符,蓝蟹在正常钙浓度范围内甲壳钙沉积随着钙浓度的增加梯度上升。

3.4 水体中添加乳酸钙对水体的水质影响

硬度和碱度是水产养殖水化学的重要指标。养殖水体中硬度高有利于池塘肥水,稳定pH,稳定池塘状态,有利于甲壳动物生长。而在甲壳动物中,若是水体硬度过低,则会引发虾蟹类动物骨骼发育不良,壳软,且在蜕壳阶段病菌更容易侵入虾蟹体内造成存活率下降,生长不良等影响^[37]。本实验中,添加乳酸钙能梯度增加水体硬度,有利于中华绒螯蟹生长发育。研究表明,水体碱度对水体中生物生长发育有显著影响,一般水体碱度过小,水生生物发育会变缓,而碱度过高则会对生物生存产生影响^[38],已有研究^[39]发现,当甲壳动物处于碱度偏高的环境中时,体内不同指标都会呈现应激状态,如SOD、CAT、GSH等活性均显著下降,机体遭受氧化损伤,免疫力下降,严重影响存活。而杨雨虹等^[40]对中华绒螯蟹幼蟹碱度胁迫研究发现,中华绒螯蟹碱度生存的安全浓度是1 825 mg/L,本实验添加后水体碱度最高仅为520 mg/L,因此,添加乳酸钙增加碱度不会影响中华绒螯蟹的生长发育。

综上所述,在水体中添加654 mg/L乳酸钙(4#组)能显著提高幼蟹的成活率、体质量增长率、壳长和壳宽增长率以及血淋巴和肌肉中钙含量,此外可显著提高与蜕壳相关基因表达量并显著降低蜕壳后残肢率。

参考文献:

- [1] 王海宁,姜晓东,吴旭干,等. 中华绒螯蟹二龄早熟和晚熟品系第三代成蟹可食率和生化组成的比较研究[J]. 上海海洋大学学报, 2018, 27(4): 487-493.
WANG H N, JIANG X D, WU X G, et al. The comparison of edible rate and biochemical composition of the second-year early-maturing and late-maturing strains of the third selective, generation during the adult culture of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2018, 27(4): 487-493.
- [2] 王世会,赵金山,吴旭干,等. 东营池塘养殖中华绒螯蟹生长性能、性腺发育及营养品质[J]. 上海海洋大学学报, 2020, 29(1): 17-26.
WANG S H, ZHAO J S, WU X G, et al. Growth performance, gonadal development and nutritional composition of adult *Eriocheir sinensis* from Dongying [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2020, 29(1): 17-26.
- [3] 农业农村部渔业渔政管理局,全国水产技术推广总站,中国水产学会. 中国渔业统计年鉴-2023[M]. 北京: 中国农业出版社, 2023.
Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. 2023 China fishery statistical yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2023.
- [4] 顾志敏,何林岗. 中华绒螯蟹卵巢发育周期的组织学细胞学观察[J]. 海洋与湖沼, 1997, 28(2): 138-145.
GU Z M, HE L G. Histological and cytological observation on the development cycle of crab (*Eriocheir sinensis*) ovary [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1997, 28 (2): 138-145.
- [5] GAO Y, ZHANG X J, WEI J K, et al. Whole transcriptome analysis provides insights into molecular mechanisms for molting in *Litopenaeus vannamei* [J]. PLoS One, 2015, 10(12): e0144350.
- [6] ZHANG C, YANG X Z, XU M J, et al. Melatonin promotes cheliped regeneration, digestive enzyme function, and immunity following autotomy in the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* [J]. Frontiers in Physiology, 2018, 9: 269.
- [7] HE J, WU X G, CHENG Y X. Effects of limb autotomy on growth, feeding and regeneration in the juvenile *Eriocheir sinensis* [J]. Aquaculture, 2016, 457: 79-84.
- [8] 陈树桥,陈勇,周国勤,等. 蜕皮激素对克氏原螯虾蜕皮和生长的影响[J]. 南京师大学报(自然科学版), 2012, 35(1): 80-83.
CHEN S Q, CHEN Y, ZHOU G Q, et al. Effects of ecdysterone on the molt and growth of *Procambarus clarkii* [J]. Journal of Nanjing Normal University (Natural Science Edition), 2012, 35(1): 80-83.
- [9] AIZENBERG J, LAMBERT G, WEINER S, et al. Factors involved in the formation of amorphous and crystalline calcium carbonate: a study of an ascidian skeleton [J]. Journal of the American Chemical Society, 2002, 124(1): 32-39.
- [10] WHEATLY M G, ZANOTTO F P, HUBBARD M G. Calcium homeostasis in crustaceans: subcellular Ca dynamics [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2002, 132(1): 163-178.
- [11] 杨航,杨志刚,张龙. 蜕壳周期内中华绒螯蟹钙含量、组织结构及相关基因表达变化[J]. 水产科学, 2022, 41(1): 116-121.
YANG H, YANG Z G, ZHANG L. Changes in calcium content, histological structure and expression of calreticulin gene of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* during molting cycle [J]. Fisheries Science, 2022, 41(1): 116-121.
- [12] CALHOUN S, ZOU E M. Epidermal carbonic anhydrase activity and exoskeletal metal content during the molting cycle of the blue crab, *Callinectes sapidus* [J]. Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology, 2016, 325(3): 200-208.
- [13] 杨航,杨志刚,张龙,等. 中华绒螯蟹幼蟹在蜕壳周期内鳃和外壳的钙含量及组织结构变化[J]. 上海海洋大学学报, 2021, 30(3): 484-491.
YANG H, YANG Z G, ZHANG L, et al. Changes of calcium content and tissue structure in gill and carapaces of juvenile *Eriocheir sinensis* during the molting cycle [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2021, 30(3): 484-491.
- [14] 潘杰. 两种类固醇对中华绒螯蟹卵黄蛋白原及其受体基因的表达调控[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.
PAN J. Study on the expression of vitellogenesis-related genes regulated by two steroids in *Eriocheir sinensis* [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020.
- [15] 王瑶,杨志刚,郭子好,等. 中华绒螯蟹 RXR 基因全长 cDNA 克隆及表达分析[J]. 水产学报, 2013, 37(12): 1761-1769.
WANG Y, YANG Z G, GUO Z H, et al. The full length cDNA cloning and expression analysis of RXR from the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(12): 1761-1769.
- [16] BERRIDGE M J, BOOTMAN M D, RODERICK H L. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling [J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2003, 4(7): 517-529.
- [17] 王茂林,张秀梅,黄国强,等. 不同钙、镁浓度对褐牙鲂幼鱼生长及 SOD 和 CAT 酶活力的影响[J]. 渔业科学进展, 2010, 31(3): 29-36.
WANG M L, ZHANG X M, HUANG G Q, et al. Effects of Ca²⁺ and Mg²⁺ concentrations on growth, SOD and CAT enzymatic activity of juvenile *Paralichthys olivaceus* [J]. Progress in Fishery Sciences, 2010, 31(3): 29-36.

- [18] 郜卫华, 徐磊, 田娟, 等. 水产动物对钙、磷需要量的研究进展[J]. 淡水渔业, 2023, 53(2): 104-112.
GAO W H, XU L, TIAN J, et al. The research progress on calcium and phosphorus requirements in aquatic animals [J]. Freshwater Fisheries, 2023, 53(2): 104-112.
- [19] 侯纯强. 水中钙浓度对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 蜕皮和生长的影响及生理生态学机制[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.
HOU C Q. Effects and mechanism of Ca^{2+} concentration on the molting and growth of juvenile *Litopenaeus vannamei* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2011.
- [20] PÉREZ-FUENTETAJA A, GOODBERRY F. *Daphnia's* challenge: survival and reproduction when calcium and food are limiting[J]. Journal of Plankton Research, 2016, 38(6): 1379-1388.
- [21] HAMMOND K S, HOLLOWES J W, TOWNSEND C R, et al. Effects of temperature and water calcium concentration on growth, survival and moulting of freshwater crayfish, *Paranephrops zealandicus* [J]. Aquaculture, 2006, 251(2/4): 271-279.
- [22] 田志环, 康现江, 焦传珍. 中华绒螯蟹蜕皮过程中体壁结构和主要成分的变化[J]. 水生生物学报, 2013, 37(5): 899-904.
TIAN Z H, KANG X J, JIAO C Z. Structural and constituent changes in integument during the molt cycle of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2013, 37(5): 899-904.
- [23] 赵磊, 龙晓文, 吴旭干, 等. 水体盐度对中华绒螯蟹成体雄蟹渗透压调节和生理代谢的影响[J]. 水生生物学报, 2016, 40(1): 27-34.
ZHAO L, LONG X W, WU X G, et al. Effects of water salinity on osmoregulation and physiological metabolism of adult male Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2016, 40(1): 27-34.
- [24] 董双林, 堵甫山, 赖伟. pH值和 Ca^{2+} 浓度对日本沼虾生长和能量收支的影响[J]. 水产学报, 1994, 18(2): 118-123.
DONG S L, DU F S, LAI W. Effects of pH and Ca^{2+} concentration on growth and energy budget of *Macrobrachium nipponense* [J]. Journal of Fisheries of China, 1994, 18(2): 118-123.
- [25] 陈娇. 中华绒螯蟹蜕壳、生长的个体观察和相关基因的表达分析[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.
CHEN J. Observation on individual molting, growth and analysis of relative gene expression in Chinese mitten crab [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016.
- [26] SLOS S, DE BLOCK R, STOKS R. Autotomy reduces immune function and antioxidant defence [J]. Biology Letters, 2009, 5(1): 90-92.
- [27] 黄姝. *EcR*和 MIH 基因在中华绒螯蟹蜕壳过程中的相互调节机制研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017.
HUANG S. Study on reciprocal regulation mechanism of *MIH* and *EcR* genes in the molting process of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017.
- [28] DURICA D S, CHUNG A C K, HOPKINS P M. Characterization of *EcR* and *RXR* gene homologs and receptor expression during the molt cycle in the crab, *Uca pugilator* [J]. American Zoologist, 1999, 39(4): 758-773.
- [29] PROMWIKORN W, BOONYOUNG P, KIRIRAT P. Histological characterization of cuticular depositions throughout the molting cycle of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) [J]. Songklanakarin Journal of Science & Technology, 2005, 27(3): 499-509.
- [30] AHEARN G A, MANDAL P K, MANDAL A. Calcium regulation in crustaceans during the molt cycle: a review and update [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2004, 137(2): 247-257.
- [31] LONG X W, WU X G, ZHAO L, et al. Effects of salinity on gonadal development, osmoregulation and metabolism of adult male Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* [J]. PLoS One, 2017, 12(6): e0179036.
- [32] SOWERS A D, YOUNG S P, GROSELL M, et al. Hemolymph osmolality and cation concentrations in *Litopenaeus vannamei* during exposure to artificial sea salt or a mixed-ion solution: relationship to potassium flux [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2006, 145(2): 176-180.
- [33] WILDER M N, IKUTA K, ATMOMARSONO M, et al. Changes in osmotic and ionic concentrations in the hemolymph of *Macrobrachium rosenbergii* exposed to varying salinities and correlation to ionic and crystalline composition of the cuticle [J]. Comparative Biochemistry & Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 1998, 119(4): 941-950.
- [34] 戚常乐, 卜宪勇, 郑佳君, 等. 中华绒螯蟹外骨骼矿化期肝胰腺脂代谢与钙离子的相关性[J]. 水产学报, 2022, 46(10): 2007-2015.
QI C L, PU X Y, ZHENG J J, et al. Correlation between hepatopancreas lipid metabolism and calcium during exoskeleton mineralization in *Eriocheir sinensis* [J]. Journal of Fisheries of China, 2022, 46(10): 2007-2015.
- [35] 徐宾朋. 拟穴青蟹蜕皮周期中离子转运相关基因的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2016.
XU B P. The functional study of the iron transport related molecules in *Scylla paramamosain* during the molt cycle [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2016.
- [36] PERRY H, TRIGG C, LARSEN K, et al. Calcium concentration in seawater and exoskeletal calcification in the blue crab, *Callinectes sapidus* [J]. Aquaculture, 2001, 198(3/4): 197-208.
- [37] 董少帅, 董双林, 王芳, 等. Ca^{2+} 浓度对凡纳滨对虾稚虾

- 生长的影响[J]. 水产学报, 2005, 29(2): 211-215.
DONG S S, DONG S L, WANG F, et al. The effect of Ca^{2+} concentration on the growth of juvenile *Litopenaeus vannamei* [J]. Journal of Fisheries of China, 2005, 29 (2): 211-215.
- [38] 杨富亿, 文波龙, 李晓宇, 等. 达里诺尔湿地水环境和鱼类多样性调查 II. 达里湖水体的碱度、pH 和硬度[J]. 湿地科学, 2020, 18(6): 646-652.
YANG F Y, WEN B L, LI X Y, et al. Investigation of water environment and fish diversity in dalinor wetlands II. alkalinity, pH and hardness of the water of Dali lake [J]. Wetland Science, 2020, 18(6): 646-652.
- [39] 卢俊, 庄平, 冯广朋, 等. 中华绒螯蟹亲蟹渗透压调节和抗氧化系统对盐度的响应[J]. 海洋渔业, 2011, 33 (1): 39-45.
LU J, ZHUANG P, FENG G P, et al. Response of osmoregulation and antioxidation system to water salinity in Parent Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Marine Fisheries, 2011, 33(1): 39-45.
- [40] 杨雨虹, 李明帅, 罗亮, 等. 盐碱胁迫对中华绒螯蟹毒性作用研究[J]. 东北农业大学学报, 2022, 53(2): 36-41.
YANG Y H, LI M S, LUO L, et al. Study on toxicity of salinity and alkalinity on *Eriocheir sinensis* [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2022, 53(2): 36-41.

Effects of adding calcium lactate to water on growth, molting, calcium deposition of Chinese mitten crab and water quality

HUANG Junjie^{1,2,3}, ZHU Shaicheng^{1,2,3}, MA Tianli^{1,2,3}, JIANG Dongliang⁴, CHENG Yongxu^{1,2,3}

(1. Shanghai Aquaculture Engineering and Technology Research Center, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Key Laboratory of Rice-Fishery, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 4. Henan Jindan Lactic Acid Technology Co., Ltd, Dancheng 477150, Henan, China)

Abstract: In order to study the effects of calcium lactate to water on the growth, molt, and calcium deposition of juvenile Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*), this study conducted a 90-day (two complete molting cycles) rearing experiment on female juvenile crabs with an initial body mass of (4.78±0.51) g. Calcium lactate was added to freshwater at concentrations of 0 mg/L, 218 mg/L, 436 mg/L and 654 mg/L and the calcium ion content in water is 45.6 mg/L, 84.4 mg/L, 123.2 mg/L and 163.6 mg/L. (recorded as Treatment 1# to 4#). The results showed: (1) The addition of calcium lactate improved survival rates of juvenile *E. sinensis* significantly. (2) With the increase in calcium lactate content, there was an upward trend of body mass, weight gain rate, specific growth rate, and hepatopancreas index of juvenile *E. sinensis* during the first molting cycle, but the differences were not significant. However, during the second molting cycle, the body weight, carapace length and carapace width growth rates of juvenile *E. sinensis* significantly increased with the calcium lactate addition, and among them, treatment 3# and 4# were significantly higher than treatment 1#. (3) The addition of calcium lactate had no significant effect on the intermolt duration but significantly reduced the rate of limb loss after each molting. (4) In terms of calcium deposition, the addition of calcium lactate significantly increased the calcium content in hemolymph during the first and second molting cycles, as well as calcium content in the muscle during the first molting cycle. (5) Increasing calcium lactate content significantly elevated the expression of *es EcR2*- mRNA and *es RXR*- mRNA. (6) Calcium lactate had no significant effect on water pH, ammonia nitrogen and nitrite, but water hardness and alkalinity significantly rose with increasing calcium lactate content. In summary, the addition of 654 mg/L calcium lactate to the water improved the survival, growth performance, calcium deposition in tissues, and expression of molting-related genes in juvenile *E. sinensis*, as well as reduced the limb loss rate after each molting.

Key words: *Eriocheir sinensis*; calcium lactate; growth performance; molting; calcium deposition