

文章编号: 1674-5566(2023)04-0699-09

DOI:10.12024/jsou.20200603091

## 伊乐藻环境中克氏原螯虾适宜养殖密度的筛选

刘明明<sup>1,2,3</sup>, 成永旭<sup>1,2,3</sup>, 李威<sup>1,2,3</sup>, 孙颖<sup>1,2,3</sup>, 刘小飞<sup>1,2,3</sup>, 奚业文<sup>4</sup>,  
李嘉尧<sup>1,2,3</sup>

(1. 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; 2. 上海海洋大学 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306; 3. 上海海洋大学 上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306; 4. 安徽省水产技术推广总站, 安徽 合肥 230601)

**摘要:** 为探究伊乐藻 (*Elodea nuttallii*) 环境中克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 适宜的养殖密度, 在伊乐藻覆盖率为 60% 的环境中, 采用不同养殖密度 (10、15、20、25、30 尾/m<sup>2</sup>) 养殖初始体质量为 (4.35±0.95) g 的克氏原螯虾 45 d, 比较了各密度组的克氏原螯虾的生长性能、食源贡献度及非特异性免疫酶活性。结果显示: 10 尾/m<sup>2</sup> 密度组的克氏原螯虾的终末体质量、终末体长及增重率最高, 其余各组间无显著差异, 当养殖密度高于 15 尾/m<sup>2</sup> 时小规格虾 (10~15 g) 的占比明显增多; 伊乐藻对克氏原螯虾的平均食源贡献度范围为 12.8%~26.9%, 且对大规格虾 (20~25 g) 的食源贡献度高于小规格虾; 各组超氧化物歧化酶 (SOD) 和溶菌酶 (LZM) 的活性均无明显差异, 仅 10 尾/m<sup>2</sup> 密度组的克氏原螯虾丙二醛 (MDA) 的含量显著低于其他 4 组, 说明保障一定的伊乐藻覆盖度能有效降低密度带来的胁迫, 并且摄食伊乐藻对克氏原螯虾的非特异性免疫具有积极作用。综上表明, 伊乐藻 (约 60% 的覆盖率) 环境中, 克氏原螯虾的适宜养殖密度为 15 尾/m<sup>2</sup>。

**关键词:** 克氏原螯虾; 养殖密度; 伊乐藻; 生长性能; 食源贡献度; 非特异性免疫酶

**中图分类号:** S 966.1      **文献标志码:** A

克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*), 俗称淡水小龙虾, 属于节肢动物门 (Arthropoda) 甲壳纲 (Crustacea) 十足目 (Decapoda) 螯虾亚目 (Astacidea) 螯虾科 (Cambaridae) 原螯虾属 (*Procambarus*)<sup>[1]</sup>。其营养丰富, 经济价值高, 市场需求大<sup>[2]</sup>, 已经成为我国广泛养殖的一种重要水产经济物种<sup>[3]</sup>。2019 年, 我国克氏原螯虾养殖总产量达 208.96 万 t, 养殖总面积达 128.6 万 hm<sup>2</sup><sup>[4]</sup>。

在克氏原螯虾养殖中, 通过提高养殖密度来实现更高的养殖产量是常用的手段之一<sup>[5]</sup>, 但养殖密度会对虾蟹类的生长、生理健康产生较大影响<sup>[6]</sup>。研究<sup>[7-8]</sup>表明, 过高的养殖密度易导致耗氧量增加, 饲料的消耗量增加, 使养殖动物产生各种应激反应, 最终影响虾蟹的饲料转化率、产

量和成活率。克氏原螯虾具有明显的格斗行为<sup>[9]</sup>, 养殖密度过高时更容易致使其种内斗争加剧, 进而影响养殖的产量<sup>[10]</sup>。刘国兴等<sup>[11]</sup>比较了无水草环境中克氏原螯虾 (8.33 g/尾) 在 6.0、7.5、9.0、10.5 尾/m<sup>2</sup> 等 4 个养殖密度下的生长性能, 发现随着养殖密度的增大, 克氏原螯虾终末体质量、增重率和终末体长降低, 残肢率升高。陈勇<sup>[5]</sup>的研究结果显示在有一定水草、遮蔽物等条件下, 克氏原螯虾 (2.4 g/尾) 的适宜饲养密度为 20 尾/m<sup>2</sup>。张家宏等<sup>[12]</sup>研究发现在有遮蔽物、水花生 (*Alternanthera philoxeroides*) 和伊乐藻 (*Elodea nuttallii*) 的环境中, 克氏原螯虾成虾 (30 g/尾) 的养殖密度小于 16 尾/m<sup>2</sup> 时, 其自残食率低于 5%。

水草作为克氏原螯虾养殖过程中关键的生

收稿日期: 2020-06-29      修回日期: 2020-08-20

基金项目: 国家重点研发计划 (2019YFD0900304); 农业农村部和国家发改委产业强镇项目 (发改农经 2019-245); 安徽省中央引导地方科技发展专项 (201907d06020008)

作者简介: 刘明明 (1992—), 男, 硕士研究生, 研究方向为克氏原螯虾生态养殖。E-mail: 13193891527@163.com

通信作者: 李嘉尧, E-mail: jy-li@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>

态因子,为虾提供栖息、退壳和隐蔽的场所,且能直接作为克氏原螯虾的天然饵料<sup>[13]</sup>。养殖过程中常用的水草有水花生、伊乐藻、轮叶黑藻(*Hydrilla verticillata*)、苦草(*Vallisneria spiralis*)等<sup>[14-15]</sup>。伊乐藻为水鳖科沉水植物,植株鲜嫩,适口性好<sup>[16]</sup>且营养丰富<sup>[17-18]</sup>,是目前克氏原螯虾养殖中应用多、效果好的水草<sup>[19-20]</sup>。但以往对适宜放养密度的研究<sup>[5,12]</sup>多在水草与隐蔽物共同存在条件下进行。对于伊乐藻环境中克氏原螯虾的适宜养殖密度以及伊乐藻对克氏原螯虾的食源贡献度等方面未见相关报道。因此,本研究分析伊乐藻环境中不同养殖密度对克氏原螯虾的生长性能、食源组成和非特异性免疫酶活性的影响,旨在探明伊乐藻环境中克氏原螯虾的适宜养殖密度,为克氏原螯虾生态养殖提供有益的参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验用虾苗来自上海海洋大学崇明基地,选取肢体健全、活力较好的虾苗(4.35±0.95)g用于实验,实验用水为曝气24h的自来水,实验用伊乐藻来自上海海洋大学崇明基地,实验材料还包括饲料(江苏欣欣有限公司)、水质测定仪(美国,哈希公司,HQ40D)等。实验用伊乐藻栽种于小花盆(PP材质,口径15cm×底径11cm×高度13.2cm)中,株高平均达到20cm后用于实验。

### 1.2 实验设计

实验于2019年6—8月在上海海洋大学崇明基地循环水养殖桶(直径×高=108cm×120cm)内进行。实验设置5个养殖密度,分别为10、15、20、25、30尾/m<sup>2</sup>(即8、12、16、20、24尾/桶),分别用A组、B组、C组、D组、E组表示,每组3个重复,同时,每个养殖桶内放置6盆伊乐藻,伊乐藻的覆盖率约为60%。实验期间,始终保持充氧和水循环,根据水草的摄食情况进行更换,确保伊乐藻足量,饲料按虾质量的3%~5%进行投喂,实验期间水体溶解氧为(8.04±0.52)mg/L、pH为7.68±0.26。

### 1.3 样品采集与处理

#### 1.3.1 生长指标的测定

实验开始和结束时,停止投喂48h,用滤纸擦干虾体表水分后,进行体质量、体长的测定,计算成活率(Survival rate, SR)、增重率(Weight gain

rate, WGR),计算方法如下:

$$W_{GR} = (W_t - W_0) / W_0 \times 100\% \quad (1)$$

$$S_R = N_t / N_0 \times 100\% \quad (2)$$

式中: $W_0$ 和 $W_t$ 分别为实验开始和实验结束时的克氏原螯虾平均体质量,g; $N_t$ 和 $N_0$ 分别为实验开始和实验结束时的克氏原螯虾存活数量,尾。在每个重复中随机取3尾虾进行解剖,取肝胰腺和尾部肌肉,准确称重,计算肝胰腺指数(Hepatopancreas index, HSI)和出肉率(Meat yield, MY),计算方法如下:

$$H_{SI} = W_h / W_t \times 100\% \quad (3)$$

$$M_Y = W_m / W_t \quad (4)$$

式中: $W_h$ 为虾的肝胰腺质量,g; $W_m$ 为虾的肌肉质量,g; $W_t$ 为实验结束时克氏原螯虾平均体质量,g;将称重后的肌肉和肝胰腺,-40℃冰箱中保存待测。

#### 1.3.2 稳定同位素样品的采集与处理

实验前随机选取与实验用虾规格一致的10尾克氏原螯虾幼虾进行解剖,取其尾部肌肉,留作本底样品;实验结束时,将每个重复的虾称重并编号,解剖取其腹部肌肉,用去离子水清洗,使用冷冻干燥机冻干,保存于10mL离心管中。

采集整株的伊乐藻,去除根部和残叶。将采集伊乐藻样品带回实验室,用清水冲洗去除表面的泥土,晾干,用冷冻干燥机冻干后,保存于自封袋中。

收集投喂的饲料,将饲料放入烘箱中60℃恒温条件下烘干48h直至恒重。

将克氏原螯虾样品、伊乐藻样品和饲料样品转移至混合球磨机(Retsch MM 400)中研磨成粉末。研磨后,将所有样品置于-20℃冰箱保存备用。

#### 1.3.3 稳定同位素分析

稳定同位素样品的测定在上海海洋大学摄食生态学实验室进行,将研磨后的样品用锡箔纸包被(每个样品1mg)。然后送入稳定同位素比例分析仪(ISOPRIME 100, Isoprime Corporation, Cheadle, UK)进行分析。测定得出碳、氮稳定同位素比值。碳、氮稳定同位素值分别以国际通用的标准物质PDB(美洲拟箭石)和空气中的N<sub>2</sub>作为参考标准,碳、氮稳定同位素值以 $\delta^{13}C$ 和 $\delta^{15}N$ 形式来表示。 $\delta^{13}C$ 和 $\delta^{15}N$ 的计算公式:

$$\delta X (\text{‰}) = R_{\text{sample}} / R_{\text{standard}} - 1 \quad (5)$$

式中: $X$ 为 $^{13}C$ 或 $^{15}N$ ;  $R_{\text{sample}}$ 是样品的稳定同位素

比值 $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 或 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ;  $R_{\text{standard}}$ 为标准品氮同位素比值。每测定 10 个样品加入 3 个标准样品,使用国际标准物分别校准碳、氮稳定同位素,碳稳定同位素标准物为 USGS24 ( $-16.0\text{‰}$  VPDB),氮稳定同位素标准物为 USGS26 ( $53.7\text{‰}$  VN<sub>2</sub>)。分析精度为  $0.05\text{‰}$  ( $\delta^{13}\text{C}$ )、 $0.06\text{‰}$  ( $\delta^{15}\text{N}$ )。

#### 1.4 肝胰腺中非特异性免疫酶活性的测定

丙二醛 (Malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、总抗氧化能力 (Total antioxidant capacity, T-AOC) 指标均采用苏州科铭生物技术有限公司生产的试剂盒测定,溶菌酶 (Lysozyme, LZM) 采用南京建成生物工程有限公司生产的试剂盒测定,测定方法按说明书进行。

#### 1.5 数据处理

使用基于 R 语言程序的稳定同位素混合模型 (Stable isotope analysis in R, SIAR) 计算不同食源对克氏原螯虾的贡献度<sup>[21]</sup>。将各组克氏原

螯虾及食源的  $\delta^{13}\text{C}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$  值输入 R 语言软件中,经分馏系数校正后<sup>[22]</sup>,得出各水草组的克氏原螯虾食源的贡献度, $\delta^{13}\text{C}$  和  $\delta^{15}\text{N}$  的分馏系数分别为  $1.3\text{‰}\pm 0.3\text{‰}$  和  $3.4\text{‰}\pm 1.0\text{‰}$ <sup>[23]</sup>。实验结果用平均值  $\pm$  标准差 (Mean  $\pm$  SD) 表示,采用 SPSS 24.0 和 Microsoft Excel 2016 进行数据分析和统计,用单因素方差分析法及 Duncan's 法进行分析比较,用 Pearson 相关系数对养殖密度与其他指标进行相关性分析,显著水平为  $P < 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 不同养殖密度克氏原螯虾生长性能的比较

由表 1 可知:A 组的终末体质量、终末体长最大,显著高于其他各组 ( $P < 0.05$ ),A 组的增重率最大,与 B 组差异不显著 ( $P > 0.05$ ),但两者均高于 C 组、D 组和 E 组,各组的肝胰腺指数、出肉率、存活率等指标均无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

表 1 不同养殖密度克氏原螯虾的生长性能

Tab. 1 Growth performance of *P. clarkii* at different stocking densities

项目 Items	A 组 Group A	B 组 Group B	C 组 Group C	D 组 Group D	E 组 Group E
初始体质量 Initial mass/g	4.30 $\pm$ 0.47	4.53 $\pm$ 0.90	4.40 $\pm$ 0.55	4.51 $\pm$ 0.64	4.25 $\pm$ 0.61
初始体长 Initial length/cm	43.31 $\pm$ 1.49	42.69 $\pm$ 2.60	43.70 $\pm$ 0.84	43.09 $\pm$ 2.61	42.31 $\pm$ 2.06
终末体质量 Final mass/g	21.35 $\pm$ 4.37 <sup>b</sup>	17.99 $\pm$ 3.15 <sup>a</sup>	16.68 $\pm$ 3.92 <sup>a</sup>	17.79 $\pm$ 3.04 <sup>a</sup>	15.94 $\pm$ 3.19 <sup>a</sup>
终末体长 Final length/cm	64.45 $\pm$ 4.98 <sup>b</sup>	61.89 $\pm$ 4.43 <sup>a</sup>	60.87 $\pm$ 3.16 <sup>a</sup>	60.91 $\pm$ 3.98 <sup>a</sup>	60.03 $\pm$ 4.84 <sup>a</sup>
增重率 WGR/%	361.57 $\pm$ 56.87 <sup>b</sup>	332.82 $\pm$ 52.26 <sup>ba</sup>	273.30 $\pm$ 8.03 <sup>a</sup>	281.22 $\pm$ 23.39 <sup>ba</sup>	259.97 $\pm$ 12.33 <sup>a</sup>
肝胰腺指数 HSI/%	8.41 $\pm$ 1.09	8.32 $\pm$ 1.10	8.41 $\pm$ 1.09	8.37 $\pm$ 0.94	8.32 $\pm$ 1.01
出肉率 MY/%	14.07 $\pm$ 2.10	14.24 $\pm$ 1.58	14.36 $\pm$ 1.51	13.84 $\pm$ 1.30	14.66 $\pm$ 1.53
存活率 SR/%	91.67 $\pm$ 5.89	83.33 $\pm$ 6.80	85.42 $\pm$ 12.84	83.33 $\pm$ 10.27	83.33 $\pm$ 3.40

注:A、B、C、D、E 分别表示 10、15、20、25、30 尾/ $\text{m}^2$  的养殖密度;同行中不同字母表示存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。

Notes: A, B, C, D, E represent the breeding density of 10, 15, 20, 25, 30 ind./ $\text{m}^2$ , respectively; Different letters in the same row indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

将各组养殖密度的克氏原螯虾根据终末体质量分为 6 类 (<10 g、10~15 g、>15~20 g、>20~25 g、>25~30 g、>30 g),各组克氏原螯虾的终末体质量分布如图 1 所示。结果显示,随养殖密度的增高,虾的整体规格变小。A 组中体质量小于 15 g 的克氏原螯虾占比仅为 18%,而 E 组占比为 50%。随着养殖密度的增加,C、D、E 组 20 g 以上规格的虾占比明显减少。

养殖密度与各组克氏原螯虾的生长指标进行相关性分析(表 2)显示,养殖密度与终末体长和增重率呈显著负相关,相关系数分别为  $-0.909$  ( $P < 0.05$ )、 $-0.929$  ( $P < 0.05$ )。

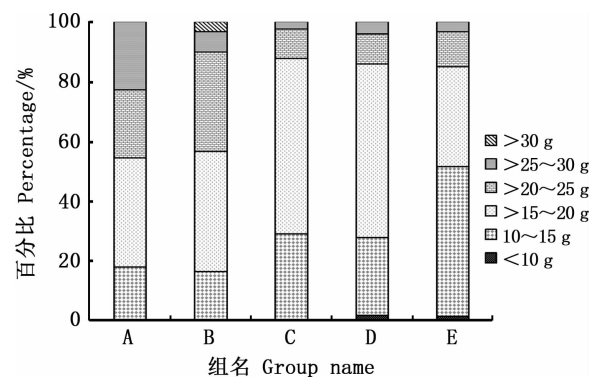


图 1 不同养殖密度各组克氏原螯虾的终末体质量分布图

Fig. 1 Distribution of terminal body mass of *P. clarkii* at different stocking densities

表2 生长指标与养殖密度的相关性分析

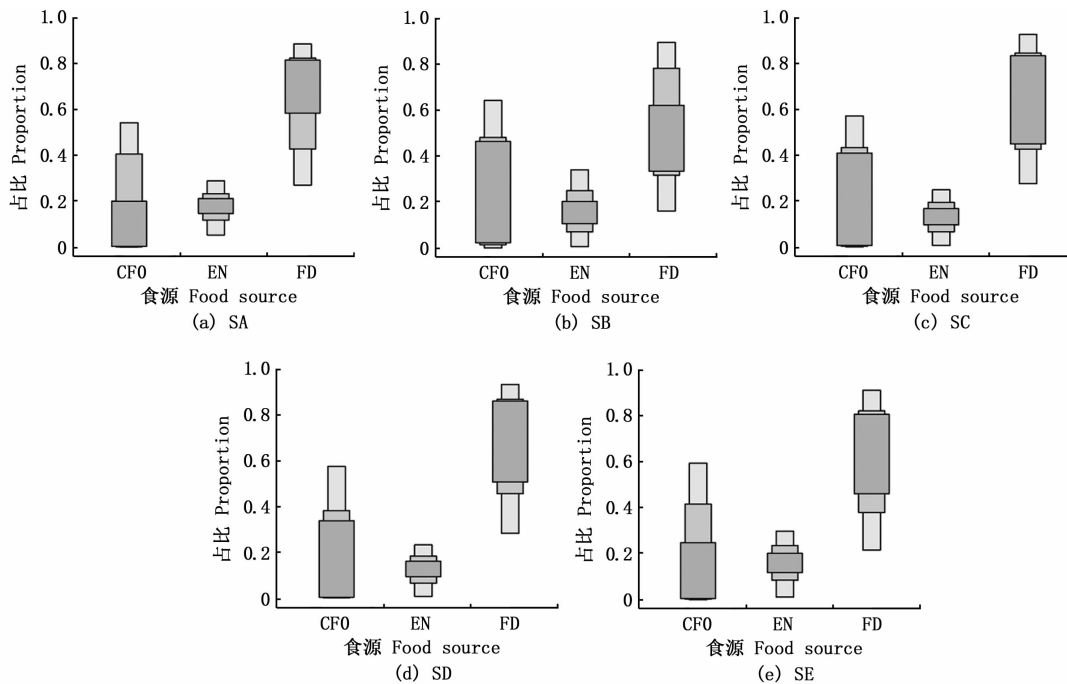
Tab.2 Correlation analysis of growth indexes and breeding density

项目 Item	生长指标 Growth indexes					
	终末体质量 Final body mass	终末体长 Final length	增重率 WGR	出肉率 MY	肝胰腺指数 HSI	存活率 SR
<i>r</i>	-0.839	-0.909	-0.929	0.400	-0.456	-0.730
<i>P</i>	0.075	0.033	0.022	0.504	0.440	0.161

## 2.2 不同密度克氏原螯虾的食源贡献度比较

实验结束时各组克氏原螯虾的平均终末体质量为 15.94~21.35 g, 根据克氏原螯虾的终末体质量分布情况(图 1), 选取小规格(10~15 g, S)和大规格(20~25 g, L)两个区间的虾用于食源分析, SA、SB、SC、SD、SE 分别表示 10、15、20、25、30 尾/ $m^2$  的养殖密度组中小规格的虾(10~15 g), LA、LB、LC、LD、LE 分别表示 10、15、20、25、30 尾/ $m^2$  的养殖密度组中大规格的虾(20~25 g)。使用 SIAR 模型计算出不同养殖密度下各组大、小规格克氏原螯虾的食源贡献度概率箱形图(图 2 和图 3)。小规格虾中, 伊乐藻(EN)对 SA 组的虾平均贡献度

最大为 17.5%, 克氏原螯虾本底(CF0)对 SB 组的虾平均贡献度最大为 30.3%, 饲料(FD)对 SD 组的平均贡献度最大为 62.5%。大规格虾中, EN 对 LA 组的虾平均贡献度最大为 26.9%, CF0 对 SB 的虾平均贡献度最大为 28.1%; FD 对 LD 组的虾平均贡献度最大为 58.7%(表 3)。结合大、小规格的食源贡献度可知, 各组克氏原螯虾的平均贡献度最大的食源均为 FD, FD 对大规格虾的平均贡献度低于小规格虾, EN 对小规格虾的平均贡献度为 12.8%~17.5%, EN 对大规格虾的平均贡献度为 14.5%~26.9%, 并且同一密度组中, EN 对大规格虾的食源平均贡献度高于小规格虾。

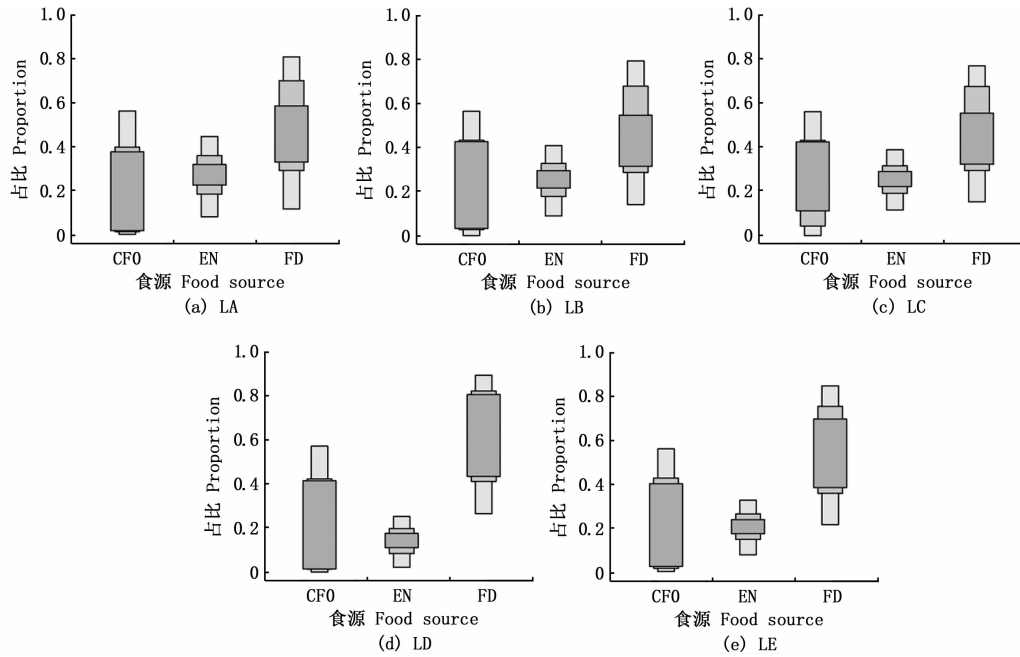


图中的条带宽度由窄到宽分别代表 95%、75%、50% 的置信区间; CF0. 克氏原螯虾本底; FD. 饲料; EN. 伊乐藻; SA、SB、SC、SD、SE 分别表示 10、15、20、25、30 尾/ $m^2$  的养殖密度组中小规格的虾(10~15 g)。

The width of the strip in the figure ranges from narrow to wide, representing 95%, 75% and 50% confidence intervals; CF0. *P. clarkii* background; FD. Feed; EN. *E. nuttallii*; SA, SB, SC, SD and SE represent small size crayfish (10~15 g) in the culture density group of 10, 15, 20, 25, 30 ind./ $m^2$ .

图2 各组小规格的克氏原螯虾食源的贡献度

Fig.2 Contribution of small-sized crayfish food sources in each group



图中的条带宽度由窄到宽分别代表 95%、75%、50% 的置信区间; CF0. 克氏原螯虾本底; FD. 饲料; EN. 伊乐藻; LA、LB、LC、LD、LE 分别表示 10、15、20、25、30 尾/ $m^2$  的养殖密度组中大规格的虾 (20~25 g)。

The width of the strip in the figure ranges from narrow to wide, representing 95%, 75% and 50% confidence intervals; CF0. *P. clarkii* background; FD. Feed; EN. *E. nuttallii*; LA, LB, LC, LD and LE represent the large size crayfish (20~25 g) in the culture density group of 10, 15, 20, 25, 30 ind./ $m^2$ .

图 3 各组大规格的克氏原螯虾食源的贡献度

Fig. 3 Contribution of large-sized crayfish food sources in each group

表 3 大、小规格克氏原螯虾的食源贡献度

Tab. 3 Food source contribution of *P. clarkii* of large and small sizes

项目 Items	A 组 Group A	B 组 Group B	C 组 Group C	D 组 Group D	E 组 Group E	%
小规格 Small size						
CF0	23.1	30.3	25.6	24.8	26.1	
伊乐藻 EN	17.5	17.2	13.6	12.8	16.6	
饲料 FD	59.5	52.5	60.8	62.5	57.4	
大规格 Large size						
CF0	25.8	28.1	27.7	26.8	26.6	
伊乐藻 EN	26.9	25.5	25.7	14.5	20.4	
饲料 FD	47.3	46.4	46.6	58.7	53.0	

### 2.3 不同养殖密度克氏原螯虾非特异性酶活性的比较

将 5 种养殖密度条件下的克氏原螯虾胰腺组织非特异性酶活性进行对比 (表 4), 结果显示, 各养殖密度组间的 SOD 和 LZM 活性无明显差异 ( $P>0.05$ ), A 组 MDA 的含量最低, 显著低于 B、C、D 和 E 组 ( $P<0.05$ )。D 组的 T-AOC 活性显著低于其余各组 ( $P<0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 养殖密度对克氏原螯虾生长性能的影响

适当增加养殖密度可以提升水体的利用率,

充分提高养殖对象的生产力, 但过高的养殖密度容易导致养殖对象的生长性能和存活率降低<sup>[24-25]</sup>。刘永士等<sup>[26]</sup>的研究表明, 随着养殖密度增加, 罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 幼虾的增重率显著下降。肖鸣鹤等<sup>[27]</sup>研究发现随着养殖密度的升高, 克氏原螯虾幼虾终末体质量逐渐减小。邓梦颖等<sup>[10]</sup>研究发现, 养殖密度对克氏原螯虾幼虾的存活率有较大的影响。本研究中, 随着养殖密度的升高, 终末体长、终末体质量、增重率等生长指标也呈现出下降趋势, 当养殖密度高于 15 尾/ $m^2$  时, 小规格虾的比例明显增多, 但各组的克氏原螯虾的存活率无显著性差异。这可能是由于随着养殖密度的

升高,克氏原螯虾种内斗争加剧,获取的能量大部分用在个体间的打斗和隐蔽所的争夺,导致其生长缓慢<sup>[28]</sup>。另外养殖过程中发现克氏原螯虾多藏匿于伊乐藻形成的水草丛中,因此减少了个体直接接

触的机率,这可能是本研究中各组成活率无显著差异的原因。此结果也暗示在克氏原螯虾幼虾培育中,可以适当提高伊乐藻覆盖率来保障苗种的成活率,提升养殖产量。

表4 不同养殖密度克氏原螯虾肝胰腺非特异性免疫酶活性的比较

Tab. 4 Comparison of non-specific immune enzyme activities in hepatopancreas of crayfish with different culture densities

项目 Items	A组 Group A	B组 Group B	C组 Group C	D组 Group D	E组 Group E
丙二醛 MDA/(nmol/g)	25.90±3.40 <sup>a</sup>	43.23±3.49 <sup>b</sup>	46.14±6.95 <sup>b</sup>	48.58±9.06 <sup>b</sup>	44.33±5.75 <sup>b</sup>
超氧化物歧化酶 SOD/(U/g)	133.73±11.75	123.90±23.18	104.48±19.02	134.28±30.17	126.81±17.81
总抗氧化能力 T-AOC/(U/g)	410.55±81.61 <sup>b</sup>	420.10±88.45 <sup>b</sup>	441.35±24.83 <sup>b</sup>	310.68±14.24 <sup>a</sup>	442.46±58.12 <sup>b</sup>
溶菌酶 LZM/(μg/mL)	1.24±0.40	1.02±0.08	1.57±0.64	1.31±0.10	1.07±0.34

注: A、B、C、D、E 分别表示 10、15、20、25、30 尾/m<sup>2</sup> 的养殖密度; 同行中不同字母表示存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。

Notes: A, B, C, D, E represent the breeding density of 10, 15, 20, 25, 30 ind./m<sup>2</sup>, respectively; Different letters in the same row indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

### 3.2 养殖密度对克氏原螯虾食源贡献度的影响

随着养殖密度的增加,克氏原螯虾对食物和空间的竞争会加剧<sup>[29]</sup>,优势个体在种群中占有较高地位、较多的食物及空间<sup>[11]</sup>。本研究中,伊乐藻的平均贡献度随着养殖密度增大而降低,究其原因:一方面可能是低密度组的克氏原螯虾的活动空间较高密度组大,在伊乐藻覆盖率基本一致的情况下,每尾虾可摄食的伊乐藻的量较高密度多;另一方面可能是低密度的虾种内斗争没有高密度的剧烈,有更多的时间和机会去摄食伊乐藻。克氏原螯虾属杂食性,随着个体的生长,食性从幼虾的偏动物食性转向植物食性<sup>[30]</sup>。本研究中,在同一养殖密度条件下,伊乐藻对大规格虾食源的平均贡献度高于小规格,其原因可能是随着克氏原螯虾的生长,其食性发生变化引起的,也可能是大规格的虾通过种内斗争的胜出<sup>[11]</sup>,占据了大量的伊乐藻,致使其食源贡献度比小规格高。另外,李聪等<sup>[31]</sup>报道了稻-虾系统中喜旱莲子草的平均贡献度为 6.00%~13.30%,低于本研究中伊乐藻的平均贡献度,可能是因为伊乐藻的适口性要好于喜旱莲子草。本研究结果显示伊乐藻是克氏原螯虾较为喜食的水草品种,对其生长也有较高的贡献度。但在实际养殖生产中伊乐藻对于克氏原螯虾食源贡献度仍需要通过室外实验进一步研究确定。

### 3.3 养殖密度对克氏原螯虾非特异性免疫酶活性的影响

养殖密度过高会对养殖对象造成胁迫,对机

体的非特异性免疫酶活性产生一定的影响<sup>[32]</sup>,MDA 是脂质过氧化的最终产物,其含量的高低可以反映机体脂质过氧化的程度,间接地反映机体细胞的损伤程度<sup>[33]</sup>。本研究中 A 组的克氏原螯虾 MDA 的含量最低,说明 10 尾/m<sup>2</sup> 的养殖密度更有助于降低克氏原螯虾体内脂质过氧化水平。而 B 组、C 组、D 组和 E 组的 MDA 含量无显著差异,这可能暗示在伊乐藻(约 60%的覆盖率)环境中,B 组、C 组、D 组和 E 组因密度条件造成的胁迫有限,不足以影响机体的抗氧化功能。SOD、T-AOC 及 LZM 活性常被用于评估甲壳动物机体抗氧化及非特异性免疫能力<sup>[34-35]</sup>。张海恩等<sup>[36]</sup>的研究发现中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)的 SOD、T-AOC 活性随着放养密度增加呈先增加后下降的趋势。但本研究中,各养殖密度组间 SOD、T-AOC 及 LZM 活性差异不大,推测其原因:一方面可能与 MDA 类似,即在伊乐藻(约 60%的覆盖率)环境中,因密度造成的胁迫相对较小,克氏原螯虾的终末体长、增重率及成活率等生长指标的结果也印证了这一推测。另一方面,可能与克氏原螯虾对伊乐藻的摄食有关。陈勇<sup>[37]</sup>的研究发现,当克氏原螯虾(平均 2.4 g)的养殖密度从 12 尾/m<sup>2</sup> 提升至 32 尾/m<sup>2</sup> 时观察到 SOD、LZM 的活性显著下降,而本研究中各组间 SOD、LZM 活性均无显著差异。孙丽萍等<sup>[38]</sup>发现在中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)饲料中添加 15% 的伊乐藻干粉后就能提升中华绒螯蟹机体 SOD、LZM 活性。本研究中,伊乐藻的食源贡献度范围为

12.8%~26.9%,因此克氏原螯虾对伊乐藻的摄食可能是造成本研究不同密度组 SOD、LZM 活性无显著差异的主要原因。D 组较低的 T-AOC 活性可能也与 D 组的克氏原螯虾对伊乐藻摄食较少(D 组伊乐藻平均食源贡献度为 12.8%~14.5%)有关。

从本实验结果看,在伊乐藻(约 60%的覆盖率)环境中,克氏原螯虾的适宜养殖密度为 15 尾/m<sup>2</sup>。虽然本实验各密度组的存活率、肝胰腺指数、出肉率均无显著差异,但当养殖密度高于 15 尾/m<sup>2</sup>时,小规格虾的占比明显增多。伊乐藻为克氏原螯虾较为喜食的水草种类,各组伊乐藻的平均食源贡献度达到 12.8%~26.9%,且对大规格虾的食源贡献度高于小规格虾。保障一定的伊乐藻覆盖率能有效降低密度带来的胁迫,并且摄食伊乐藻对克氏原螯虾的非特异性免疫具有积极作用。

#### 参考文献:

- [1] GHERARDI F. Crayfish invading Europe: the case study of *Procambarus clarkii* [J]. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 2006, 39(3): 175-191.
- [2] YUE C F, WANG T T, WANG Y F, et al. Effect of combined photoperiod, water calcium concentration and pH on survival, growth, and moulting of juvenile crayfish (*Procambarus clarkii*) cultured under laboratory conditions [J]. *Aquaculture Research*, 2009, 40(11): 1243-1250.
- [3] 李浪平, 吕建林, 龚世园, 等. 克氏原螯虾形态参数关系的初步研究[J]. *水利渔业*, 2006, 26(3): 40-42.  
LI L P, LYU J L, GONG S Y, et al. Studies on the morphology of *Procambarus clarkii* [J]. *Reservoir Fisheries*, 2006, 26(3): 40-42.
- [4] 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. 2020 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2020: 24.  
Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, PRC, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. 2020 China fishery statistical yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2020: 24.
- [5] 陈勇. 饲养密度对克氏原螯虾生长和成活率的影响[J]. *安徽农业大学学报*, 2016, 43(1): 37-41.  
CHEN Y. Effect of stocking density on growth and survival rate of *Procambarus clarkii* [J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2016, 43(1): 37-41.
- [6] BALAKRISHNAN G, PAYAIL S, RAMACHANDRAN K, et al. Growth of cultured white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) in different stocking density [J]. *Advances in Applied Science Research*, 2011, 2(3): 107-113.
- [7] WAIHO K, MUSTAQIM M, FAZHAN H, et al. Mating behaviour of the orange mud crab, *Scylla olivacea*: the effect of sex ratio and stocking density on mating success [J]. *Aquaculture Reports*, 2015, 2: 50-57.
- [8] MIRERA D O, MOKSNES P O. Comparative performance of wild juvenile mud crab (*Scylla serrata*) in different culture systems in East Africa: effect of shelter, crab size and stocking density [J]. *Aquaculture International*, 2015, 23(1): 155-173.
- [9] 王陈路, 高倩影, 唐建清, 等. 克氏原螯虾领域占有现象的研究及其在养殖中的应用[J]. *水产科学*, 2015, 34(2): 118-121.  
WANG C L, GAO Q Y, TANG J Q, et al. Phenomena and application of territory ownership in red swamp crayfish *Procambarus clarkii* in aquaculture [J]. *Fisheries Science*, 2015, 34(2): 118-121.
- [10] 邓梦颖, 吴志强, 肖英平, 等. 养殖密度对克氏原螯虾幼虾生长、摄食和饵料利用影响[J]. *淡水渔业*, 2010, 40(3): 13-17.  
DENG M Y, WU Z Q, XIAO Y P, et al. Effects of rearing density on growth, food-intake and feed utilization of juvenile *Procambarus clarkii* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2010, 40(3): 13-17.
- [11] 刘国兴, 李玲, 彭刚, 等. 放养密度对克氏原螯虾生长和养殖水质的影响[J]. *江西农业学报*, 2014, 26(4): 86-89, 93.  
LIU G X, LI L, PENG G, et al. Effects of stocking density on growth of *Procambarus clarkii* and aquaculture water quality [J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2014, 26(4): 86-89, 93.
- [12] 张家宏, 王守红, 寇祥明, 等. 克氏原螯虾自相残食特性及人工繁育中的关键技术研究[J]. *江西农业学报*, 2010, 22(2): 109-112.  
ZHANG J H, WANG S H, KOU X M, et al. Study on characteristics of cannibalism and key technology in artificial reproduction of *Procambarus clarkii* [J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2010, 22(2): 109-112.
- [13] 徐增洪, 刘国锋, 水燕, 等. 人工栽培水草对池塘养殖生态环境和蟹生长的影响[J]. *江苏农业科学*, 2016, 44(6): 328-331.  
XU Z H, LIU G F, SHUI Y, et al. Effects of artificial cultivation of aquatic plants on the ecological environment of pond culture and the growth of shrimp and crab [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2016, 44(6): 328-331.
- [14] 刘爽, 唐玉华. 小龙虾池塘水草栽种方法与常见问题处理措施[J]. *海洋与渔业*, 2017(12): 65-66.  
LIU S, TANG Y H. Crayfish pond aquatic planting methods and common problems treatment measures [J]. *Ocean and Fishery*, 2017(12): 65-66.
- [15] 何杰. 水草在鱼虾蟹类健康养殖中的作用[J]. *齐鲁渔业*, 2007, 24(9): 21-22.

- HE J. The role of aquatic plants in the healthy culture of fish, shrimp and crab [J]. *Shandong Fisheries*, 2007, 24(9): 21-22.
- [16] 徐增洪, 周鑫, 水燕. 克氏原螯虾的食物选择性及其摄食节律[J]. *大连海洋大学学报*, 2012, 27(2): 166-170.
- XU Z H, ZHOU X, SHUI Y. Food preference and feeding rhythm in red swamp crayfish *Procambarus clarkii* [J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2012, 27(2): 166-170.
- [17] 张蕾, 章文琪, 吴仁福, 等. 中华绒螯蟹成蟹养殖池塘常用水草的营养成分比较[J]. *浙江海洋学院学报(自然科学版)*, 2016, 35(2): 113-121.
- ZHANG L, ZHANG W Q, WU R F, et al. The comparison of nutritional composition of commonly used aquatic plants in aquaculture ponds of adult Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* [J]. *Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science)*, 2016, 35(2): 113-121.
- [18] 孙丽萍. 东太湖常见沉水植物作为中华绒螯蟹饲料源的可行性研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2011.
- SUN L P. Assessment of common submerged macrophytes in East Taihu Lake as feed resources for *Eriocheir sinensis* [D]. Suzhou: Soochow University, 2011.
- [19] 刘庆华, 黄姝, 岳武成, 等. 伊乐藻对中华绒螯蟹生长和营养品质的影响[J]. *中国水产科学*, 2017, 24(1): 91-99.
- LIU Q H, HUANG S, YUE W C, et al. Effects of *Elodea nuttallii* on growth and nutritional quality of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2017, 24(1): 91-99.
- [20] 李兴辉. 水草在虾蟹养殖中的利用[J]. *水产养殖*, 2010, 31(3): 20-22.
- LI X H. Utilization of aquatic plants in shrimp and crab culture [J]. *Journal of Aquaculture*, 2010, 31(3): 20-22.
- [21] PARNELL A C, INGER R, BEARHOP S, et al. Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation [J]. *PLoS One*, 2010, 5(3): e9672.
- [22] POST D M. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions [J]. *Ecology*, 2002, 83(3): 703-718.
- [23] MCCUTCHAN J H JR, LEWIS W M JR, KENDALL C, et al. Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur [J]. *Oikos*, 2003, 102(2): 378-390.
- [24] WYBAN J A, LEE C S, SATO V T, et al. Effect of stocking density on shrimp growth rates in manure-fertilized ponds [J]. *Aquaculture*, 1987, 61(1): 23-32.
- [25] NARANJO-PÁRAMO J, HERNANDEZ-LLAMAS A, VILLARREAL H. Effect of stocking density on growth, survival and yield of juvenile redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae) in gravel-lined commercial nursery ponds [J]. *Aquaculture*, 2004, 242(1/4): 197-206.
- [26] 刘永士, 臧维玲, 侯文杰, 等. 室内罗氏沼虾幼虾养殖密度对水质与生长的影响[J]. *上海海洋大学学报*, 2010, 19(2): 184-189.
- LIU Y S, ZANG W L, HOU W J, et al. The effect of the stocking densities of indoor juvenile shrimps *Macrobrachium rosenbergii* culture on water quality and growth [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2010, 19(2): 184-189.
- [27] 肖鸣鹤, 肖英平, 吴志强, 等. 养殖密度对克氏原螯虾幼虾生长、消化酶活力和生理生化指标的影响[J]. *水产学报*, 2012, 36(7): 1088-1093.
- XIAO M H, XIAO Y P, WU Z Q, et al. Effects of stocking density on growth, digestive enzyme activities and biochemical indices of juvenile *Procambarus clarkii* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(7): 1088-1093.
- [28] GRAHAM M E, HERBERHOLZ J. Stability of dominance relationships in crayfish depends on social context [J]. *Animal Behaviour*, 2009, 77(1): 195-199.
- [29] FIGLER M H, BLANK G S, PEEKE H V S, et al. Shelter competition between resident male red swamp crayfish *Procambarus clarkii* (Girard) and conspecific intruders varying by sex and reproductive status [J]. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 2005, 38(4): 237-248.
- [30] ILHÉU M, BERNARDO J. Experimental evaluation of food preference of red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*: vegetal versus animal [J]. *Freshwater Crayfish*, 1993, 9: 359-364.
- [31] 李聪, 成永旭, 管勤壮, 等. 用稳定性同位素技术分析稻-虾系统中不同“碳/氮”投喂方式对克氏原螯虾食性的影响[J]. *水产学报*, 2018, 42(11): 1778-1786.
- LI C, CHENG Y X, GUAN Q Z, et al. Using stable isotopes to estimate the effects of different carbon/nitrogen feeds on feeding habit of *Procambarus clarkii* in the rice-crayfish co-culture system [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(11): 1778-1786.
- [32] 曹阳, 李二超, 陈立侨, 等. 养殖密度对俄罗斯鲟幼鱼的生长、生理和免疫指标的影响[J]. *水生生物学报*, 2014, 38(5): 968-974.
- CAO Y, LI E C, CHEN L Q, et al. Effects of stocking density on growth, physiological and immune responses in juvenile Russian sturgeon [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, 38(5): 968-974.
- [33] 李京昊, 成永旭, 王海锋, 等. 利用生物絮团技术对克氏原螯虾的养殖效果初探[J]. *水产学报*, 2019, 43(4): 968-977.
- LI J H, CHENG Y X, WANG H F, et al. A preliminary study on the feeding effect of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) using biofloc technology [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(4): 968-977.
- [34] LIU G, ZHU S M, LIU D Z, et al. Effects of stocking density of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) on immunities, antioxidant status, and resistance against *Vibrio harveyi* in a biofloc system [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 67: 19-26.



- [35] 段亚飞, 张家松, 董宏标, 等. 副溶血弧菌对斑节对虾非特异性免疫酶活性的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(9): 1557-1564.  
DUAN Y F, ZHANG J S, DONG H B, et al. The non-specific immune response of *Penaeus monodon* to *Vibrio parahaemolyticus* challenge [J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(9): 1557-1564.
- [36] 张海恩, 何玉英, 李健, 等. 密度胁迫对中国对虾幼虾生长、抗氧化系统功能及水质指标的影响[J]. 渔业科学进展, 2020, 41(2): 140-149.  
ZHANG H E, HE Y Y, LI J, et al. Effects of stocking density on growth, water quality, and antioxidant system of juvenile *Fenneropenaeus chinensis* [J]. Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(2): 140-149.
- [37] 陈勇. 饲养密度对克氏原螯虾成活率和肝胰腺三种免疫酶的影响[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(16): 4237-4240.  
CHEN Y. Effect of stocking density on survival rate and immune enzyme in liver of *Procambarus clarkii* [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2016, 55(16): 4237-4240.
- [38] 孙丽萍, 宋学宏, 朱金荣, 等. 沉水植物对中华绒螯蟹生长和非特异性免疫力的影响[J]. 淡水渔业, 2012, 42(1): 35-40.  
SUN L P, SONG X H, ZHU J R, et al. Effects of submerged plants on growth performance and non-specific immunity of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Freshwater Fisheries, 2012, 42(1): 35-40.

## Selection of suitable stocking densities of *Procambarus clarkii* in the environment of *Elodea nuttallii*

LIU Mingming<sup>1,2,3</sup>, CHENG Yongxu<sup>1,2,3</sup>, LI Wei<sup>1,2,3</sup>, SUN Ying<sup>1,2,3</sup>, LIU Xiaofei<sup>1,2,3</sup>, XI Yewen<sup>4</sup>, LI Jiayao<sup>1,2,3</sup>

(1. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 4. Fisheries Technology Extension Center of Anhui Province, Hefei 230601, Anhui, China)

**Abstract:** To investigate the suitable stocking density of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) in an environment with about 60% *Elodea nuttallii* coverage rate, a 45-day rearing experiment was conducted. The initial weight of juvenile crayfish was (4.35±0.95) g, the growth performance, food source contribution and non-specific immune enzyme activity of red swamp crayfish were compared at different stocking densities (10, 15, 20, 25 and 30 ind./m<sup>2</sup>). The results showed that: The final body mass, terminal body length and weight gain rate of crayfish in the density group of 10 ind./m<sup>2</sup> were the highest, and there was no significant difference among the other groups, and the culture density was higher than 15 ind./m<sup>2</sup>, the proportion of small-sized crayfish (10–15 g) increases significantly; The average food source contribution of *Elodea nuttallii* to crayfish ranged from 12.8% to 26.9%, and its contribution to large-sized crayfish (20–25 g) was higher than that of small-sized crayfish; There was no significant difference in the activities of superoxide dismutase (SOD) and lysozyme (LZM) among all groups, the malondialdehyde (MDA) content of crayfish of only 10 ind./m<sup>2</sup> was significantly lower than the other four groups, which indicated that ensuring certain coverage rate of *Elodea nuttallii* can effectively reduce the negative effects of density stress, and the intake of *Elodea nuttallii* could have a positive effect on the non-specific immunity of crayfish. In conclusion, the suitable stocking density of crayfish was 15 ind./m<sup>2</sup> in the environment of *Elodea nuttallii* (about 60% coverage).

**Key words:** *Procambarus clarkii*; stocking density; *Elodea nuttallii*; growth performance; food source contribution; non-specific immunity