

三种饵料模式对中华绒螯蟹蟹种早期 养殖性能、非特异免疫性能 及抗病力的影响

姜晓东^① 吴旭干^{①*} 张金彪^② 何杰^① 刘青^{①④}
葛永春^③ 成永旭^{①④}

① 上海海洋大学, 水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室 上海 201306; ② 常州市金坛区水产技术指导站 常州 213200;
③ 上海登瀛水产养殖专业合作社 上海 202164; ④ 上海海洋大学, 上海市教委水产动物遗传育种协同创新中心 上海 201306

摘要: 为评估不同投喂模式对中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 蟹种质量的影响, 采用养殖实验、非特异性免疫指标分析和攻毒实验方法, 比较了配合饲料、传统饵料和混合投喂模式培育扣蟹在成蟹养殖早期的养殖性能、免疫性能和攻毒后死亡率的变化。所检测的非特异性免疫指标包括碱性磷酸酶 (ALP)、酸性磷酸酶 (ACP)、 γ -谷氨酰转移酶 (γ -GT)、总抗氧化能力 (T-AOC)、超氧化物歧化酶 (SOD)、酚氧化酶 (PO)、过氧化物酶 (POD)、丙二醛 (MDA)、一氧化氮 (NO)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、谷胱甘肽还原酶 (GR) 及血蓝蛋白 (Hc) 活性或含量。采用毒力较强的嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophilia*) Y-2-L-1 菌株进行攻毒实验。结果显示: (1) 无论雄蟹还是雌蟹, 配合饲料组第一次蜕壳间期均短于传统投喂和混合投喂模式, 且配合饲料组增重率 (WGR) 及体重特定增长率 (SGR) 均显著高于另外两组 ($P < 0.05$); (2) 就肝胰腺中非特异性免疫指标而言, 无论雄蟹还是雌蟹, 配合饲料组 γ -谷氨酰转移酶 (γ -GT)、总抗氧化能力 (T-AOC) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 活性均高于另外两组, 其中 γ -谷氨酰转移酶 (γ -GT) 差异显著; 传统投喂组酸性磷酸酶 (ACP)、丙二醛 (MDA)、一氧化氮 (NO) 和过氧化物酶 (POD) 含量均高于另外两组, 其中酸性磷酸酶 (ACP) 和一氧化氮 (NO) 含量差异显著; (3) 就血清中各免疫指标而言, 配合饲料组谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 和总抗氧化能力 (T-AOC) 活性高于另外两组, 但差异均不显著 ($P > 0.05$), 传统投喂组碱性磷酸酶 (ALP)、酸性磷酸酶 (ACP)、丙二醛 (MDA) 及血蓝蛋白 (Hc) 等指标含量均高于另外两组, 其中丙二醛 (MDA) 差异显著; (4) 无论雄蟹还是雌蟹, 传统投喂组扣蟹攻毒后 12 ~ 96 h 的累计死亡率一直高于配合饲料组和混合投喂组, 配合饲料组和混合投喂组雄体攻毒后的累计死亡率接近, 混合投喂组雌体累计死亡率居于传统投喂组和配合饲料组之间。综上, 投喂配合饲料可以提高扣蟹在成蟹早期的养殖性能、免疫性能和攻毒后的成活率, 有利于提高蟹种质量。

关键词: 中华绒螯蟹; 扣蟹养殖; 投喂模式; 蟹种质量; 比较研究

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2017) 01-85-12

基金项目 科技部港澳台科技合作专项项目 (No. 2014DFT30270), 科技部科技型中小企业技术创新项目 (No. 14C26213201214), 上海市科委科研项目计划项目 (No. 13231203504), 上海高校水产学一流学科建设项目 (No. 2012-62-0908);

* 通讯作者, E-mail: xgwu@shou.edu.cn;

第一作者介绍 姜晓东, 男, 硕士研究生; 研究方向: 河蟹养殖技术和良种培育; E-mail: 310410555@qq.com。

收稿日期: 2016-02-02, 修回日期: 2016-07-20 DOI: 10.13859/j.cjz.201701010

Effects of Three Feeding Modes on Early Culture Performance, Non-specific Immunity and Disease Resistance of Juvenile Chinese Mitten Crab (*Eriocheir sinensis*)

JIANG Xiao-Dong^① WU Xu-Gan^{①*} ZHANG Jin-Biao^② HE Jie^①
LIU Qing^{①④} GE Yong-Chun^③ CHENG Yong-Xu^{①④}

① Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; ② Changzhou Jintan District Fisheries Technical Extension Station, Changzhou 213200; ③ Shanghai Dengying Aquaculture Cooperatives, Shanghai 202164; ④ Collaborative Innovation Center of Aquatic Animal Breeding Center Certificated by Shanghai Municipal Education Commission, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: Formulated diet, traditional diet and their mixture are three common feeding modes for the culture of juvenile Chinese Mitten Crab (*Eriocheir sinensis*), but their effects on crab seed quality are unclear. Therefore, this study was conducted to compare and evaluate the effects of three feeding modes on the early culture performance, immunity and the mortality during the pathogen challenge test for the juvenile crabs. The non-special immune indices include alkaline phosphatase, acid phosphatase, γ -glutamyl transferase, total antioxidant capacity, superoxyde dismutase, phenoloxidase, peroxidase, malondialdehyde, nitric oxide, glutathione peroxidase, glutathione reductase and hemocyanin. The poison test used the strain of *Aeromonas hydrophilia* Y-2-L-1 whose virulence is strong. The results showed that: (1) In both males and females, formulated diets treatment caused a shorter period of first molting than traditional diets treatment and mixture diets treatment, and significant higher weight gain rate and specific growth rate ($P < 0.05$) (Table 3); (2) In terms of the non-specific immune indices in the hepatopancreas, although formulated diets treatment caused higher activity of γ -glutamyl transferase, total antioxidant capacity and superoxyde dismutase than traditional diets treatment and mixture diets treatment, the only significant difference was found in γ -glutamyl transferase; however the traditional diets treatment caused higher acid phosphatase, malondialdehyde, nitric oxide and peroxidase activities than the other two treatments, while the significant differences were found in acid phosphatase and nitric oxide for both males and females (Table 4); (3) In terms of the non-specific immune indexes in hemolymph, formulated diets treatment group had higher glutathione peroxidase and total antioxidant capacity activities than the traditional diets treatment and mixture diets treatment while traditional diets treatment group had higher alkaline phosphatase, acid phosphatase, malondialdehyde and hemocyanin than other two treatments; among these indices, significant difference was found only in malondialdehyde (Table 5); (4) During the pathogen challenge test within 12 - 96 h, traditional diets treatment group had higher cumulative mortality than the other two groups in both males and females; similar cumulative mortality was detected for the males of formulated diets treatment and mixture diets treatment while the cumulative mortality of mixture diets treatment females ranged between formulated diets treatment and traditional diets treatment (Fig. 1). In conclusion, feeding of formulated diets can improve early culture performance, immunity and survival during the pathogen challenge test of juvenile Chinese Mitten Crab,

suggesting that our optimized formulated diets could improve the quality of crab seeds for Chinese Mitten Crab.

Key words: Chinese Mitten Crab, *Eriocheir sinensis*; Juvenile culture; Feeding modes; Crab seed quality; Comparative study

中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 简称河蟹, 是我国重要的养殖蟹类之一 (He et al. 2014), 2014 年我国成蟹养殖产量高达 79.65 万 t (农业部渔业渔政管理局 2015)。池塘养殖是我国河蟹养殖的主要方式, 河蟹池塘养殖周期通常为两年, 第一年为扣蟹养殖阶段, 亦称 1 龄蟹种培育, 指从大眼幼体养殖至体重为 5 ~ 10 g 的蟹种/扣蟹的阶段, 大多养殖户/单位在扣蟹养殖早期仅投喂少量配合饲料, 养殖中后期主要投喂豆粕、菜粕、麸皮和小麦等, 以降低饵料成本和控制一龄蟹的性早熟 (张列士等 2002, 王武等 2013); 第二年为成蟹养殖, 将扣蟹养殖至性腺发育成熟/基本成熟的成蟹, 目前成蟹养殖中仅早期和中期投喂部分配合饲料, 其余养殖阶段主要投喂杂鱼、螺蛳、玉米、小麦和大豆等饵料 (阙有清等 2012)。尽管与杂鱼、螺蛳、豆粕、菜粕和麸皮等传统饵料相比, 配合饲料存在质量稳定、营养均衡、使用方便和容易保存等优点, 但是由于养殖习惯、饵料价格和推广不足等原因, 目前扣蟹养殖过程中仍然有相当比例养殖户/企业主要依靠投喂传统饵料或者传统饵料与配合饲料混合投喂进行扣蟹养殖, 这在一定程度上影响了河蟹养殖技术的提高和蟹种质量 (杨丽丽等 2011, 付龙龙等 2015)。

先前的生产实践经验表明, 扣蟹养殖后期如果投喂优质饵料可以提高扣蟹蟹种质量, 如提高第二年养成早期的蜕壳成活率、增重率和缩短第一次蜕壳时间等 (王武等 2013), 但是这些生产经验尚缺乏严格的实验验证, 缺乏足够的说服力, 在一定程度上影响着扣蟹配合饲料的优化、大面积推广和应用等。我国扣蟹养殖中主要存在三种投喂模式——全程配合饲料投喂模式、传统饵料投喂模式及配合饲料和传

统饵料混合投喂模式, 以下分别简称配合饲料模式、传统饵料模式和混合投喂模式 (宋长太等 2014, 付龙龙等 2015), 目前有关饲料中维生素和中草药等添加剂对河蟹免疫抗病性能影响的有关研究较多 (艾春香等 2008, 李思明等 2015), 但尚未见不同扣蟹投喂模式对蟹种免疫抗病性能影响的报道。先前研究表明, 抗病力、非特异性免疫指标、蜕壳成活率、增重率和蜕壳时间是评价蟹种质量的重要指标 (刘丽平等 2008, 杨丽丽等 2011)。鉴于此, 本研究比较和评价了配合饲料投喂模式、传统饵料投喂模式和混合投喂模式养殖蟹种的抗病力、非特异性免疫指标和早期养殖性能, 以期为河蟹扣蟹养殖技术提高和配合饲料开发应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 蟹种来源与饵料模式

2014 年 5 月中旬, 将淡化后的河蟹大眼幼体 [体重为 (7.25 ± 0.03) mg/只] 运回上海海洋大学崇明基地, 投放于 9 口等大的扣蟹养殖池塘 (长 × 宽 = 60 m × 40 m), 每个池塘投放大眼幼体 6 kg。单个池塘呈“回”字形, 四周为环沟, 沟宽 2.5 m, 沟深 1.2 m, 中间为面积 1 000 m² (40 m × 25 m) 的平台, 平台深 0.6 m, 池塘的四周设置 35 cm 高的塑料防逃板, 池塘内均匀种植一定量的水花生 (*Alternanthera philoxeroides*) 供扣蟹隐蔽, 水花生面积占池塘水面积的 50% 左右。按表 1 进行三种投喂模式的扣蟹养殖, 每种投喂模式重复 3 个池塘。所用饵料的常规营养组成见表 2, 其中扣蟹 1#、2# 和 3# 饲料粒径分别为 1.2 mm、1.6 mm 和 1.8 mm (浙江欣欣饲料有限公司生产)。

1.2 养殖管理

饵料投喂量为蟹体重的 0.5% ~ 6.0%, 具体

表 1 中华绒螯蟹扣蟹养殖三种投喂模式的投喂策略

Table 1 The feeding strategy of three feeding modes for culture of juvenile Chinese Mitten Crab

时间 Time	配合饲料模式 Formulated diets treatment	传统投喂模式 Traditional diets treatment	混合投喂模式 Mixture diets treatment
5月中~6月中 Mid-May to Mid-Jun.	破碎料 Broken diets	豆粕: 麸皮 = 1:1 混合 Soybean: Bran = 1:1	破碎料 Broken diets
6月中~7月中 Mid-Jun. to Mid-Jul.	扣蟹 1#饲料 Juvenile diets 1#	豆粕: 菜粕: 麸皮 = 2:1:1 混合 Soybean: Vegetable cake: Bran = 2:1:1	豆粕: 菜粕: 麸皮 = 2:1:1 Soybean: Vegetable cake: Bran = 2:1:1
7月底~9月中 End of Jul. to Mid-Sep.	扣蟹 2#饲料 Juvenile diets 2#	豆粕: 菜粕: 麸皮 = 1:2:1 混合 Soybean: Vegetable cake: Bran = 2:1:1	扣蟹 2#和菜粕交替投喂 Feed alternately with juveniles diets 2# and vegetable cake
9月底~11月中 End of Sep. to Mid-Nov.	扣蟹 3#饲料 Juvenile diets 3#	小麦和玉米交替投喂 Feed alternately with wheat and corn	小麦和玉米交替投喂 Feed alternately with wheat and corn

表 2 不同饵料的常规生化组成

Table 2 The proximate composition of different diets

饵料名称 Diet name	水分含量 (% , 湿重) Water content (%, wet weight)	蛋白含量 (% , 干重) Protein content (%, dry weight)	脂肪含量 (% , 干重) Liquid content (%, dry weight)	灰分 (% , 干重) Ash content (%, dry weight)
破碎料 Broken diets	10.85 ± 0.26 ^c	44.23 ± 0.28 ^a	8.62 ± 0.26 ^b	10.28 ± 0.12 ^b
扣蟹 1#饲料 Juvenile diets 1#	11.41 ± 0.12 ^d	41.35 ± 0.39 ^b	9.04 ± 0.43 ^b	10.31 ± 0.28 ^b
扣蟹 2#饲料 Juvenile diets 2#	9.33 ± 0.19 ^f	38.14 ± 0.23 ^c	6.85 ± 0.38 ^c	9.19 ± 0.31 ^c
扣蟹 3#饲料 Juvenile diets 3#	10.33 ± 0.32 ^e	34.23 ± 0.36 ^e	10.21 ± 0.17 ^a	11.43 ± 0.25 ^a
豆粕 Soybean	11.57 ± 0.23 ^d	42.34 ± 0.68 ^b	1.92 ± 0.11 ^f	6.02 ± 0.42 ^e
菜粕 Vegetable cake	12.15 ± 0.25 ^c	37.17 ± 0.43 ^d	3.50 ± 0.17 ^e	7.23 ± 0.15 ^d
麸皮 Bran	13.82 ± 0.18 ^a	14.79 ± 0.18 ^f	4.31 ± 0.24 ^d	3.86 ± 0.10 ^f
小麦 Wheat	12.38 ± 0.06 ^c	12.48 ± 0.26 ^e	3.48 ± 0.13 ^e	1.77 ± 0.02 ^h
玉米 Corn	12.68 ± 0.12 ^b	9.99 ± 0.13 ^h	4.78 ± 0.21 ^d	2.81 ± 0.16 ^e

同列数值上标不同字母表示差异显著, $P < 0.05$ 。

Values in the same column without a common letter are significantly different, $P < 0.05$.

根据水温和摄食情况灵活调整, 每天记录每口池塘的实际投喂饲料量。每日定时测定池塘水温、pH和溶氧, 每3 d测定1次养殖水体的氨氮和亚硝酸盐含量, 根据水质情况, 每10 d左右换水一次, 换水量根据实际情况确定, 并使用消毒剂或微生态制剂; 夏季及时梳理水花生, 防止水花生过密影响河蟹正常活动和摄食。2015年2月底从池塘中挑选一定数量的扣蟹进行攻毒和养殖实验。

1.3 攻毒实验

2015年1月底, 每种投喂模式分别取附肢

健全、活力较好的扣蟹180只(雌雄各半), 体重为7~10 g, 用于攻毒实验。攻毒前实验用蟹先在循环系统中暂养7 d, 以适应养殖环境, 暂养期间如有死亡需要补充对应性别和体重的个体。养殖环境条件为: 日光灯光照, 光照强度为800 lx左右, 光照与黑暗分别12 h, 循环水养殖, 水温(28 ± 1) °C, pH 7.5~8.5、溶氧(dissolved oxygen, DO) > 5 mg/L、氨氮(NH₃-N) < 0.5 mg/L、亚硝酸盐 < 0.05 mg/L, 投喂扣蟹3#配合饲料。采用毒力较强的嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophilia*) Y-2-L-1菌株进行攻毒

实验, 菌株由上海海洋大学张庆华教授提供。根据预备实验结果确定嗜水气单胞菌按照蟹体重注射量为 2.5×10^6 cfu/g, 合适的注射剂量为 $2.0 \mu\text{l/g}$, 根据每只蟹的体重、注射剂量和总菌数将嗜水气单胞菌稀释到合适的浓度进行注射。采用微量注射器从扣蟹第三步足基部进行注射, 每种投喂模式雌雄攻毒注射各 30 只, 分别 3 个重复组, 每个重复各 20 只扣蟹 (雌雄各半), 养殖于体积为 150 L (长 \times 宽 \times 高 = 75 cm \times 45 cm \times 55 cm) 的循环水族箱中; 采用相等数量的扣蟹注射等剂量生理盐水作为实验对照组, 同时设未注射组作为空白对照组。注射后每日仍然正常投喂, 观察和记录各组扣蟹死亡情况, 及时取出死亡个体, 并无菌操作分离肝胰腺和头胸部肌肉中感染病原菌是否为攻毒的嗜水气单胞菌, 观察时间持续 7 d, 直到连续 3 d 内基本无死亡个体便停止实验。

1.4 非特异性免疫指标测定

分别从每个饲料组的 3 个池塘中取雌雄扣蟹各 10 只采集血淋巴和肝胰腺用于非特异性免疫指标测定, 扣蟹要求同上。采用 1 ml 无菌注射器从第三步足基部抽取 0.4 ml 左右血淋巴样品装于 1.5 ml 离心管中, 然后解剖取出所有肝胰腺装于冻存管中。所有肝胰腺和血淋巴样品于 -80°C 超低温冰箱中保存备用。称取 0.2 g 左右的肝胰腺, 加入 1 ml (重量与体积比约为 1 : 5) 预冷的生理盐水后, 用 T10B 型微型匀浆器 (德国 IKA 公司) 匀浆 30 s, 在 4°C 12 000 r/min 条件下离心 20 min, 取中间清液 (上层为油脂, 下层为组织沉淀) 再次离心, 取中间清液用于后续分析。血淋巴解冻后分别用微型匀浆器匀浆 30 s, 然后在 4°C 12 000 r/min 条件下离心 20 min, 取出上清液 (血清) 待测。采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定超氧化物歧化酶 (superoxyde dismutase, SOD) 和总抗氧化能力 (total antioxidant capacity, T-AOC)、过氧化物酶 (peroxidase, POD)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、酸性磷酸酶 (acid phosphatase, ACP)、碱性磷酸酶 (alkaline

phosphatase, ALP); 采用苏州科铭生物科技有限公司生产的试剂盒测定 γ -谷氨酰转肽酶 (γ -glutamyl transferase, γ -GT); 血蓝蛋白测定参考 Nickerson (1971) 的方法, 用 Tris-Ca 缓冲液 (50 mmol/L Tris-HCl, 10 mmol/L CaCl_2 , pH = 8.0) 将血清稀释 70 倍后, 在 335 nm 波长下比色测定吸光度 A 值, 血蓝蛋白含量 (g/L) = $3.717 \cdot A_{335} \cdot$ 稀释倍数。

1.5 早期养殖性能比较

2015 年 3 月底, 每种投喂模式分别取越冬后的扣蟹各 40 只 (雌雄各半) 进行养殖性能的比较实验, 要求附肢健全、体无外伤、活力较好, 初始体重 7 ~ 10 g, 三种投喂模式间初始体重无显著差异。实验分为 3 组, 每组各重复 40 只个体, 为防止河蟹蜕壳被同类残杀, 因此本实验中采用单个体养殖方法评价其早期养殖性能 (赵亚婷等 2013)。所有实验用蟹分别单独养殖于小型循环水族箱中 (水体体积 18.4 L, 长 \times 宽 \times 高 = 48 cm \times 32 cm \times 27 cm, 水深 12 cm), 每箱放置一段 PVC 管作为隐蔽物。实验期间光暗周期为 12 h : 12 h, 光照强度为 800 lx 左右, 日光灯光源; 养殖用水为过滤、沉淀和消毒曝气后的河道淡水。每天 16:00 时左右投喂, 按照蟹体重 1% ~ 5% 的量投喂成蟹 1#配合饲料 (浙江欣欣饲料有限公司, 蛋白含量为 40% 左右, 脂肪为 10%), 具体根据水温和摄食情况确定。正式实验后, 每日 8:00 时开始, 观察记录每个水族箱中雌雄蟹的蜕壳和死亡情况; 每只蟹蜕壳后 5 ~ 6 d 用三圈牌 M150 游标卡尺 (上海精美量具厂, 量程 150 mm, 精确度 0.02 mm) 测定其甲壳长和甲壳宽, 同时用电子天平测量体重并记录雌雄; 每日上午用虹吸的办法移出残饵, 根据水质情况每 3 d 换水 20% ~ 30%。采用温度自动记录仪记录每日平均水温, 每日测定水体溶氧和 pH, 每 3 d 测定一次亚硝酸和氨氮, 并记录。实验期间水质指标要求为: pH 7.5 ~ 9.0, 溶氧 $> 5 \text{ mg/L}$, 氨氮 $< 0.3 \text{ mg/L}$, 亚硝酸盐 $< 0.10 \text{ mg/L}$ 。正式实验共持续 10 周左右, 所有实验用蟹完成第一次蜕壳或者死亡

便结束养殖实验,统计各实验组的成活率、增重率、特定增长率、第一次蜕壳间期。成活率 (%) = 100 · (实验开始蟹数量 - 死亡个体数) / 实验开始蟹数量;增重率 (%) = 100 · (蟹实验终重 - 蟹实验初重) / 蟹实验初重;体重特定增长率 (%/d) = 100 · (ln 蟹实验终重 - ln 蟹实验初重) / 实验天数;第一次蜕壳间期 (d) = 第一次退壳日期 - 实验开始日期。

1.6 数据处理

所有数据采用平均值 ± 标准误表示。采用 SPSS 17.0 软件对实验数据进行统计分析,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,采用单因子 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;当数据转换后仍不满足齐性方差时,采用 Games-Howell 非参数检验对多重比较。取 $P < 0.05$ 为差异显著,在 EXCEL 和 sigmaplot 软件上绘制相关图表。

2 结果与分析

2.1 早期养殖性能比较

就成活率而言,雄蟹是配合饲料组最高,混合投喂组最低,而雌蟹是配合饲料组成活率最高,混合投喂组仍最低,但各组成活率差异不显著 ($P > 0.05$)。就第一次蜕壳间期而言,无论是雌蟹还是雄蟹,配合饲料组的蜕壳间期均较低,另外两组蜕壳间期接近,各组第一次蜕壳间期同样差异不显著。不同投喂模式对第一次蜕壳增重率的影响比较明显,其中配合饲料组雄蟹增重率显著高于传统投喂组和混合投喂组 ($P < 0.05$),此外配合饲料组雌蟹增重率显著高于混合投喂组。不同投喂模式对扣蟹体重特定增长率的影响也比较明显,表现为无论雄蟹还是雌蟹,配合饲料组体重特定增长率均最高,且显著高于传统投喂组和混合投喂组 ($P < 0.05$) (表 3)。

2.2 非特异性免疫指标比较

2.2.1 肝胰腺中非特异性免疫指标 三种投喂

模式对扣蟹肝胰腺非特异性免疫指标的影响见表 4。就雄体而言,配合饲料组和传统投喂组碱性磷酸酶 (ALP) 活性显著高于混合投喂组,传统投喂组酸性磷酸酶 (ACP) 活性显著高于配合饲料组和混合投喂组,γ-谷氨酰转移酶 (γ-GT) 活性从高到低依次为:配合配合饲料组 > 传统投喂组 > 混合投喂组,且差异显著 ($P < 0.05$)。对雄蟹肝胰腺抗氧化能力的影响表现为:配合配合饲料组和传统配合饲料组总抗氧化能力 (T-AOC) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 活性显著高于混合投喂组 ($P < 0.05$);传统投喂组过氧化物酶 (POD)、一氧化氮 (NO) 及谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性最高,混合投喂组的过氧化物酶 (POD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性最低,且显著低于传统投喂组;传统投喂组丙二醛 (MDA) 含量最高但差异并不显著 ($P > 0.05$)。

就雌蟹而言,配合饲料组雌蟹肝胰腺碱性磷酸酶 (ALP) 和 γ-谷氨酰转移酶 (γ-GT) 活性显著高于其他两组 ($P < 0.05$);酸性磷酸酶 (ACP) 活性以传统投喂组最高,且显著高于其余两组;各组间雌蟹肝胰腺总抗氧化能力 (T-AOC) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 活性均无显著差异;传统投喂组过氧化物酶 (POD) 活性和一氧化氮 (NO) 含量显著高于其他两组 ($P < 0.05$),其余两组间差异不显著;配合饲料组和传统投喂组丙二醛 (MDA) 含量和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性均显著高于混合投喂组。

2.2.2 血淋巴中非特异性免疫指标 三种投喂

模式对扣蟹血淋巴非特异性免疫指标的影响如表 5 所示。就雄体而言,传统投喂组碱性磷酸酶 (ALP)、酸性磷酸酶 (ACP) 及 γ-谷氨酰转移酶 (γ-GT) 等酶的活性显著高于另外两组,且另外两组之间这些酶的活性差异不显著;传统投喂组酚氧化酶 (PO) 活性显著高于配合饲料组,传统投喂组和混合投喂组一氧化氮 (NO) 含量显著高于配合饲料组,传统投喂组丙二醛 (MDA) 含量显著高于配合饲料组和混合投喂

表 3 三种扣蟹投喂模式对成蟹早期养殖性能的影响

Table 3 The effects of three feeding modes on early culture performance of adult Chinese Mitten Crab

项目 Subject	性别 Sex	配合饲料模式 Formulated diets treatment	传统投喂模式 Traditional diets treatment	混合投喂模式 Mixture diets treatment
成活率 Survival (%)	雄体 Males	80.00 ± 14.14	85.00 ± 7.07	55.00 ± 7.07
	雌体 Females	80.00 ± 0.00	75.00 ± 7.07	70.00 ± 14.14
	平均 Average	80.00 ± 8.16	80.00 ± 8.16	62.50 ± 12.58
蜕壳间期 Molting interphase (d)	雄体 Males	35.14 ± 10.93	39.15 ± 9.73	38.25 ± 12.48
	雌体 Females	32.60 ± 6.45	38.53 ± 13.77	39.25 ± 12.06
	平均 Average	33.83 ± 8.82	38.67 ± 12.05	38.92 ± 11.93
增重率 Weight gain rate WGR (%)	雄体 Males	52.68 ± 10.11 ^b	42.88 ± 11.51 ^{ab}	36.76 ± 7.31 ^a
	雌体 Females	51.90 ± 11.83 ^b	39.47 ± 7.60 ^a	40.68 ± 7.97 ^a
	平均 Average	52.01 ± 10.81 ^b	41.38 ± 10.37 ^a	39.31 ± 7.79 ^a
体重特定增长率 Specific growth rate SGR (%)	雄体 Males	1.31 ± 0.30 ^b	1.01 ± 0.27 ^a	0.90 ± 0.27 ^a
	雌体 Females	1.32 ± 0.17 ^b	0.97 ± 0.27 ^a	0.99 ± 0.36 ^a
	平均 Average	1.32 ± 0.24 ^b	1.00 ± 0.27 ^a	0.96 ± 0.33 ^a

同行数值上标不同字母表示差异显著, $P < 0.05$ 。

Values in the same row without a common letter are significantly different, $P < 0.05$.

组。而其余各指标, 谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、谷胱甘肽还原酶 (GR)、总抗氧化能力 (T-AOC)、超氧化物歧化酶 (SOD) 及血蓝蛋白 (Hc) 各组之间差异均不显著。

就雌蟹而言, 传统投喂组碱性磷酸酶 (ALP) 和酸性磷酸酶 (ACP) 活性显著高于其他两组 ($P < 0.05$); 而 γ -谷氨酰转移酶 (γ -GT) 活性以配合饲料组最高, 且显著高于其余两组。不同投喂模式对雌蟹血清一氧化氮 (NO) 和丙二醛 (MDA) 含量影响较大, 传统投喂模式和混合投喂模式的这两项指标显著高于配合饲料组; 但对其余各种酶, 酚氧化酶 (PO)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、谷胱甘肽还原酶 (GR)、总抗氧化能力 (T-AOC)、超氧化物歧化酶 (SOD) 及血蓝蛋白 (Hc) 含量的影响较小, 传统投喂组酚氧化酶 (PO)、谷胱甘肽还原酶 (GR) 及血蓝蛋白 (Hc) 活性较高, 配合饲料组谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、总抗氧化能力 (T-AOC) 及超氧化物歧化酶 (SOD) 活性较高, 但差异均不显著。

2.3 攻毒后的累计死亡率比较

三种投喂模式下扣蟹以嗜水气单胞菌攻毒

后的累计死亡率变化情况见图 1。生理盐水实验对照组和空白对照组均无死亡个体。无论雄体还是雌体, 扣蟹攻毒后的死亡主要发生在 12 ~ 48 h, 96 h 后基本无死亡发生。就雄体而言, 传统投喂模式组扣蟹在攻毒后 12 ~ 96 h 的累计死亡一直高于配合饲料组和混合投喂组, 传统投喂模式组雄体死亡率在 48 h 后保持不变, 为 43.3%, 混合投喂模式组雄体在 72 h 后停止死亡, 累计死亡率为 46.7%; 雌体攻毒后的累计死亡率变化情况基本与雄体类似, 但是混合投喂组的累计死亡率在 24 h 后一直居于传统模式和配合饲料组之间。

3 讨论

3.1 不同投喂模式对早期养殖性能的影响

本研究结果表明, 即使在成蟹阶段投喂相同的饲料, 由于扣蟹阶段投喂不同的饵料, 其早期养殖差异也较大, 这说明不同投喂模式对其后的成蟹养殖性能产生了较大影响。整体上, 配合饲料组蟹种蜕皮速度快、增重率大且生长速度快, 这可能与配合饲料的营养组成有关 (杨丽丽等 2011)。本研究中配合饲料营养

表 4 三种投喂模式对扣蟹肝胰腺中非特异性免疫指标的影响
Table 4 The effects of three feeding modes on activities of nonspecific immunity enzyme in hepatopancreas of juvenile Chinese Mitten Crab

性别 Sex	指标 Indices	配合饲料模式 Formulated diets treatment	传统投喂模式 Traditional diets treatment	混合投喂模式 Mixture diets treatment
雄性 Male	碱性磷酸酶 ALP Alkaline phosphatase (U/mg)	98.17 ± 21.36 ^b	103.37 ± 8.29 ^b	44.05 ± 12.10 ^a
	酸性磷酸酶 ACP Acid phosphatase (U/g)	0.69 ± 0.25 ^a	0.78 ± 0.15 ^b	0.52 ± 0.07 ^a
	γ-谷氨酰转移酶 γ-GT γ-glutamyl transferase (U/g)	8.86 ± 0.23 ^c	4.36 ± 0.45 ^b	0.74 ± 0.24 ^a
	总抗氧化能力 T-AOC Total antioxidant capacity (U/mg)	0.69 ± 0.22 ^b	0.68 ± 0.20 ^b	0.29 ± 0.13 ^a
	超氧化物歧化酶 SOD Superoxyde dismutase (U/mg)	7.79 ± 1.99 ^b	7.75 ± 1.59 ^b	4.88 ± 1.21 ^a
	过氧化物酶 POD Peroxidase (U/mg)	10.21 ± 1.91 ^{ab}	19.70 ± 9.97 ^b	5.01 ± 2.04 ^a
	丙二醛 MDA Malondialdehyde (nmol/mg)	3.75 ± 1.47	4.49 ± 0.75	3.02 ± 1.17
	一氧化氮 NO Nitric oxide (μmol/g)	11.56 ± 3.20 ^a	25.82 ± 3.15 ^b	14.41 ± 3.90 ^a
雌性 Female	谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px Glutathione peroxidase (U)	54.84 ± 9.72 ^b	66.77 ± 4.85 ^c	35.30 ± 6.19 ^a
	碱性磷酸酶 ALP Alkaline phosphatase (U/mg)	82.31 ± 14.24 ^b	53.62 ± 4.57 ^a	38.46 ± 8.41 ^a
	酸性磷酸酶 ACP Acid phosphatase (U/g)	0.74 ± 0.06 ^b	0.90 ± 0.04 ^c	0.38 ± 0.08 ^a
	γ-谷氨酰转移酶 γ-GT γ-glutamyl transferase (U/g)	19.65 ± 8.86 ^b	2.52 ± 0.29 ^a	0.69 ± 0.14 ^a
	总抗氧化能力 T-AOC Total antioxidant capacity (U/mg)	0.42 ± 0.14	0.30 ± 0.04	0.28 ± 0.03
	超氧化物歧化酶 SOD Superoxyde dismutase (U/mg)	7.20 ± 1.75	5.58 ± 1.42	7.05 ± 1.58
	过氧化物酶 POD Peroxidase (U/mg)	14.67 ± 3.52 ^a	22.82 ± 4.07 ^b	11.22 ± 2.73 ^a
	丙二醛 MDA Malondialdehyde (nmol/mg)	5.30 ± 0.49 ^b	8.51 ± 0.37 ^c	2.73 ± 0.50 ^a
一氧化氮 NO Nitric oxide (μmol/g)	13.93 ± 2.05 ^a	19.62 ± 2.88 ^b	13.58 ± 3.05 ^a	
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px Glutathione peroxidase (U)	53.82 ± 13.53 ^b	49.10 ± 10.87 ^b	32.11 ± 6.65 ^a	

同行数值上标不同字母表示差异显著, $P < 0.05$ 。

Values in the same row without a common letter are significantly different, $P < 0.05$.

参数是根据先前研究结果设计的, 饲料原料种类较多, 营养相对均衡, 且经过超微粉碎和后熟化等加工工艺, 有利于扣蟹消化吸收, 因此

配合饲料投喂组扣蟹体内(特别是肝胰腺)可能积累了更多的营养物质, 故成蟹养殖早期蜕壳快、增重率大。本实验中扣蟹配合饲料中的

表 5 三种投喂模式对扣蟹血淋巴中非特异性免疫指标的影响

Table 5 The effects of three feeding modes on activities of nonspecific immunity enzymes in hepatopancreas of Chinese Mitten Crab

性别 Sex	指标 Indices	配合饲料模式 Formulated diets treatment	传统投喂模式 Traditional diets treatment	混合投喂模式 Mixture diets treatment	
雄性 Male	碱性磷酸酶 ALP Alkaline phosphatase (U/mg)	142 ± 31 ^a	218 ± 65 ^b	138 ± 35 ^a	
	酸性磷酸酶 ACP Acid phosphatase (U/g)	0.30 ± 0.05 ^a	0.53 ± 0.17 ^b	0.20 ± 0.04 ^a	
	γ-谷氨酰转移酶 γ-GT γ-glutamyl transferase (U/g)	20.23 ± 4.92 ^a	63.40 ± 18.77 ^b	11.63 ± 4.65 ^a	
	酚氧化酶 PO Phenoloxidase (U/mg)	7.24 ± 1.80 ^b	3.92 ± 0.68 ^a	5.70 ± 0.88 ^{ab}	
	谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px Glutathione peroxidase (U)	668.53 ± 71.47	664.14 ± 62.56	590.95 ± 79.84	
	谷胱甘肽还原酶 GR Glutathione reductase (U/L)	82.32 ± 12.37	73.31 ± 9.75	83.60 ± 6.43	
	一氧化氮 NO Nitric oxide (μmol/g)	1 044.44 ± 113.31 ^a	1 324.44 ± 107.27 ^b	1 395.56 ± 216.25 ^b	
	总抗氧化能力 T-AOC Total antioxidant capacity (U/mg)	5.83 ± 0.98	4.86 ± 1.15	4.96 ± 0.80	
	超氧化物歧化酶 SOD Superoxyde dismutase (U/mg)	35.42 ± 2.57	36.05 ± 1.12	33.57 ± 1.37	
	丙二醛 MDA Malondialdehyde (nmol/mg)	7.39 ± 0.75 ^a	14.30 ± 3.22 ^c	8.36 ± 1.80 ^a	
	血蓝蛋白 Hc Hemocyanin (mg/ml)	52.24 ± 9.72	54.36 ± 9.49	53.61 ± 11.17	
	雌性 Female	碱性磷酸酶 ALP Alkaline phosphatase (U/mg)	158 ± 39 ^a	241 ± 36 ^b	187 ± 26 ^{ab}
		酸性磷酸酶 ACP Acid phosphatase (U/g)	0.37 ± 0.02 ^b	0.59 ± 0.08 ^c	0.25 ± 0.03 ^a
		γ-谷氨酰转移酶 γ-GT γ-glutamyl transferase (U/g)	87.79 ± 11.35 ^c	44.26 ± 21.68 ^b	9.85 ± 2.29 ^a
酚氧化酶 PO Phenoloxidase (U/mg)		5.26 ± 2.06	6.23 ± 1.23	5.10 ± 1.32	
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px Glutathione peroxidase (U)		710.69 ± 59.04	655.86 ± 24.91	653.02 ± 98.72	
谷胱甘肽还原酶 GR Glutathione reductase (U/L)		73.31 ± 7.33	85.21 ± 14.26	79.74 ± 12.54	
一氧化氮 NO Nitric oxide (μmol/g)		1 084.44 ± 96.10 ^a	1 355.56 ± 96.86 ^b	1 321.00 ± 231.26 ^b	
总抗氧化能力 T-AOC Total antioxidant capacity (U/mg)		6.09 ± 1.53	4.56 ± 0.51	5.43 ± 0.94	
超氧化物歧化酶 SOD Superoxyde dismutase (U/mg)		35.91 ± 2.63	34.73 ± 2.83	31.90 ± 2.83	
丙二醛 MDA Malondialdehyde (nmol/mg)		6.81 ± 0.99 ^a	15.04 ± 1.58 ^c	8.72 ± 0.68 ^b	
血蓝蛋白 Hc Hemocyanin (mg/ml)		55.44 ± 7.34	62.94 ± 7.97	59.68 ± 12.98	

同列数值上标不同字母表示差异显著, $P < 0.05$ 。Values in the same row without a common letter are significantly different, $P < 0.05$.

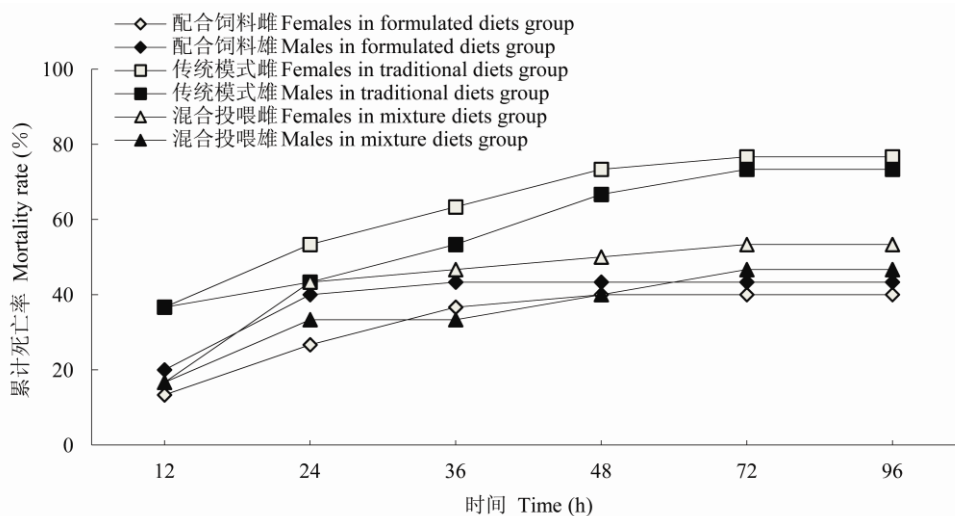


图 1 三种投喂模式下扣蟹攻毒后的累计死亡率比较

Fig. 1 Comparison of accumulative mortality rate of Chinese Mitten Crab under three feeding modes after being challenged by *Aeromonas hydrophila*

脂肪和灰分含量高于豆粕、菜粕、麸皮等传统饵料，这说明配合饲料能量水平更高且含有更多矿物质元素。尽管配合饲料的蛋白含量与豆粕及菜粕比较接近，但是其氨基酸组成差异较大，豆粕和菜粕中均缺乏蛋氨酸和赖氨酸等必需氨基酸，且含有较多抗营养因子（麦康森 2011），因此直接投喂高蛋白的植物性饲料原料养殖扣蟹效果不佳（陈立桥等 2009）。此外，扣蟹养殖晚期（9 月底至 11 月中），扣蟹基本不再生壳，主要是积累营养用于越冬，因此传统投喂模式和混合投喂模式主要投喂小麦和玉米，这可能是造成蟹种质质量较差的重要原因。蟹种越冬前的营养积累对第二年成蟹养殖第一次生长和蜕壳十分重要，越冬前营养积累充分的蟹种，第二年养殖早期即使不投喂，也可以完成成蟹阶段的第一次蜕壳（王福辰 2015）。小麦和玉米中碳水化合物含量较高，但蛋白和脂肪含量较低，不利于扣蟹进行越冬期的营养积累，因此第二年成蟹养殖早期生长性能较差。

3.2 不同投喂模式对非特异性免疫指标和攻毒成活率的影响

γ -谷氨酰转移酶 (γ -GT) 是谷胱甘肽降解

中的关键酶，其活性通常用来反应肝功能是否正常（Whitfield 2001, Giannini et al. 2005），通常活性越高说明肝细胞中蛋白代谢旺盛，或者受到的氧化应激和损伤较大。本研究中配合饲料组扣蟹肝胰腺和血淋巴中的 γ -谷氨酰转移酶 (γ -GT) 活性较高，可能由于其养殖后期饵料中的蛋白含量远高于其他两组投喂模式的饵料蛋白含量。总抗氧化能力 (T-AOC)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 等都是评价动物体抗氧化能力的重要指标（赵亚婷等 2013），配合饲料组肝胰腺和血淋巴中的上述指标相对较高，混合投喂组或传统投喂组较低，这暗示配合饲料组扣蟹具有更强的抗氧化能力，这可能与配合饲料中营养相对平衡，添加了维生素 C (V_C) 和维生素 E (V_E) 等抗氧化物质有关（Wang et al. 2015）。丙二醛 (MDA) 是机体脂质受自由基作用生成的过氧化代谢产物，其含量间接反映机体受自由基攻击的严重程度及细胞损伤的程度，含量越高说明机体受到的氧化损伤可能越大（Janero 1990）。配合饲料组扣蟹组织中丙二醛 (MDA) 含量最低，传统投喂模式组扣蟹组织中丙二醛 (MDA) 含量较高，这可能由于配合饲料的营

养全面, 该组扣蟹具有较强的抗氧化能力, 因此组织中 MDA 含量较低(Stephan et al. 1995)。过氧化物酶(POD)是一类含铁的金属酶类, 其主要功能是降解机体有机物质代谢过程中所形成的酚、胺等过氧化物, 从而减轻其毒性(李红霞等 2011)。由于传统投喂模式组存在较多的丙二醛(MDA), 故该组肝胰腺中的过氧化物酶(POD)活性显著高于其他两组。

碱性磷酸酶(ALP)和酸性磷酸酶(ACP)是生物体内两种重要的非特异性磷酸水解酶, 能催化磷酸单酯的水解及磷酸基团的转移反应, 不仅参与甲壳动物的磷、钙、DNA、RNA、蛋白质和脂质代谢, 且对机体免疫性能具有重要作用(刘树青等 1999, Xue et al. 2000)。本实验结果表明, 传统投喂组肝胰腺和血淋巴中碱性磷酸酶(ALP)和酸性磷酸酶(ACP)活性均显著高于另外两组, 这可能与该组扣蟹主要依靠投喂小麦麸皮、豆粕和菜粕等饵料有关, 这些饵料中通常磷元素含量丰富, 如小麦麸皮中磷元素的含量约占其灰分重的 20.5%(林琳 2010), 因此需要提高机体的碱性磷酸酶(ALP)和酸性磷酸酶(ACP)活性, 以加快磷代谢。一氧化氮(NO)是动物体内作用广泛的一种内源性物质, 参与机体的许多生理和病理过程, 对机体既具有保护性作用, 又有损伤性影响: 它可以通过非特异性杀伤细菌、真菌、寄生虫及病毒等, 增强机体的非特异性免疫(钟慈声等 1997); 由于一氧化氮(NO)是一种自由基, 体内过量的一氧化氮(NO)可通过超氧化作用引起细胞毒性(刘文珍等 2007)。传统投喂模式组扣蟹肝胰腺中的一氧化氮(NO)含量最高, 其余两组较低, 这暗示该组肝胰腺可能具有一定的病理反应。酚氧化酶(PO)具有将酚催化为黑色素的作用, 黑色素及其中间代谢产物具有杀死病原微生物的功能, 因此酚氧化酶(PO)是评价甲壳动物免疫抗病性能的重要指标(李义 2007, 张亚娟等 2010), 本研究中配合饲料组雄体扣蟹血清中酚氧化酶(PO)活性最高, 这暗示配合饲料组

扣蟹具有较强的免疫性能。混合投喂组非特异免疫指标大体低于配合饲料组和传统投喂组, 这可能是混合投喂组中配合饲料和传统饵料的适口性差异导致的, 但交替投喂不同饵料对扣蟹免疫抗病性能的影响仍有待进一步研究。攻毒实验结果表明, 传统模式组扣蟹攻毒后的死亡速度最快, 配合饲料组死亡最慢, 这也说明配合饲料组扣蟹具有较强的免疫性能。

综上, 配合饲料投喂组扣蟹蟹种具有较强的免疫性能, 可以降低攻毒后的死亡率, 并且这些蟹种在成蟹养殖早期的增重率和特定增长率优于传统的麸皮饼粕投喂模式, 因此全程投喂配合饲料可以显著提高河蟹蟹种质量。

致谢 上海海洋大学水产与生命学院张庆华副教授提供嗜水气单胞菌菌株, 季策、潘杰和黄根勇同学参与部分实验工作, 在此一并表示感谢。

参 考 文 献

- Giannini E G, Testa R, Savarino V. 2005. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *Canadian Medical Association Journal*, 172(3): 367-379.
- He J, Wu X G, Cheng Y X, et al. 2014. Comparison of the culture performance and profitability of wild-caught and captive pond-reared Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) juveniles reared in grow-out ponds: Implications for seed selection and genetic selection programs. *Aquaculture*, 434: 48-56.
- Janero D R. 1990. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radical Biology Medicine*, 9(6): 515-540.
- Nickerson K W, Van K E. 1971. A comparison of molluscan and arthropod hemocyanin: I. Circular dichroism and absorption spectra. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 39(4): 855-872.
- Stephan G, Guillaume J, Lamour F. 1995. Lipid peroxidation in turbot (*Scophthalmus maxlmus*) tissue: effect of dietary vitamin E and dietary n-6 or n-3 polyunsaturated fatty acids. *Aquaculture*, 130(2/3): 251-268.
- Wang L G, Chen L Q, Qin J G, et al. 2015. Effect of dietary lipids and

- vitamin E on growth performance, body composition, anti-oxidative ability and resistance to *Aeromonas hydrophila* challenge of juvenile Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*. *Aquaculture Research*, 46(10): 2544–2558.
- Whitfield J B. 2001. Gamma glutamyl transferase. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 2001, 38(4): 263–355.
- Xue Q G, Renault T. 2000. Enzymatic activities in european flat oyster, *Ostrea edulis*, and pacific oyster, *Crassostrea gigas*, hemolymph. *Journal of Invertebrate Pathology*, 76(3): 155–163.
- 艾春香, 陈立侨, 刘晓玲, 等. 2008. 维生素 C 对中华绒螯蟹非特异性免疫的影响. *水产学报*, 32(2): 249–256.
- 陈立侨, 李二超. 2009. 中华绒螯蟹营养需求的研究现状和进展. *饲料工业*, 30(10): 1–6.
- 付龙龙, 李跃华, 陆全平, 等. 2015. 1 龄蟹种培育集中模式对比分析. *水产养殖*, 35(12): 39–42.
- 李红霞, 李义, 俞菊华, 等. 2008. 寡脱氧核苷酸对中华绒螯蟹非特异性免疫指标的影响. *中国水产科学*, 15(5): 801–807.
- 李思明, 丁惠君, 郭小洋, 等. 2015. 复方中草药对中华绒螯蟹生长、非特异性免疫和抗病力的影响. *水产科学*, 34(4): 201–207.
- 李义. 2007. 中华绒螯蟹新型免疫调节剂及其酚氧化酶的纯化和性质研究. 南京: 南京农业大学农学院博士学位论文.
- 林琳. 2010. 小麦麸皮的营养成分及其开发利用. *农业科技与装备*, 189(3): 41–42.
- 刘丽平, 薛晖, 周刚. 2008. 复方中草药对中华绒螯蟹免疫因子的影响. *南京师范大学学报: 自然科学版*, 23(1): 109–113.
- 刘树青, 江晓路, 牟海津, 等. 1999. 免疫多糖对中国对虾溶菌酶、磷酸酶和过氧化物酶的作用. *海洋与湖沼*, 30(3): 278–283.
- 刘文珍, 邱德全. 2007. 溶藻弧菌对凡纳滨对虾血清中一氧化氮及氧自由基的影响. *广东海洋大学学报*, 27(3): 60–63.
- 麦康森. 2011. *水产动物营养与饲料学*. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 214–234.
- 农业部渔业渔政管理局. 2015. 2015 年中国渔业统计年鉴. 北京: 中国农业出版社.
- 阙有清, 杨志刚, 成永旭, 等. 2012. 配合饲料替代杂鱼对中华绒螯蟹生长发育、体成分及脂肪酸组成的影响. *水产学报*, 36(10): 1612–1622.
- 宋长太, 丁余其, 成建平. 2014. 苏北地区优质蟹种培育关键技术. *科学养鱼*, (7): 11–12.
- 王福辰. 2015. 越冬后至第一次蜕壳前中华绒螯蟹营养积累与能量策略研究. 上海: 上海海洋大学硕士学位论文.
- 王武, 王成辉, 马旭洲. 2013. *河蟹生态养殖*. 北京: 中国农业出版社, 59–84.
- 杨丽丽, 杨筱珍, 成永旭, 等. 2011. 冰鲜野杂鱼和配合饲料对中华绒螯蟹幼蟹生长、消化酶活力及血细胞的影响研究. *复旦学报: 自然科学版*, 50(5): 619–624.
- 张列士, 李军. 2002. *河蟹增养殖技术*. 北京: 金盾出版社, 5–248.
- 张亚娟, 王超, 刘存歧, 等. 2010. 氨态氮和亚硝态氮对日本沼虾酚氧化酶活力及血蓝蛋白含量的影响. *水产科学*, 29(1): 31–34.
- 赵亚婷, 吴旭干, 常国亮, 等. 2013. 饲料中 DHA 含量对中华绒螯蟹幼蟹生长、脂类组成和低氧胁迫的影响. *水生生物学报*, 37(6): 1133–1144.
- 钟慈声, 孙安阳. 1997. *一氧化氮的生物医学*. 上海: 上海医科大学出版社, 28–33.