



中华绒螯蟹二龄早熟和晚熟品系选育第四代在扣蟹阶段养殖性能和免疫性能的评价

王海宁¹, 姜晓东¹, 吴旭干^{1,2,3,4}, 邓登^{2,5}, 向朝林^{2,5}, 成永旭^{1,3,4*}

- (1. 上海海洋大学, 农业农村部淡水种质资源重点实验室, 上海 201306;
2. 浙江澳凌水产种业科技有限公司, 浙江 长兴 313100;
3. 上海海洋大学, 水产动物遗传育种上海市协同创新中心, 上海 201306;
4. 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306;
5. 深圳市澳华集团股份有限公司, 广东 深圳 518054)

摘要: 本研究以中华绒螯蟹2龄早熟和晚熟群体选育第四代(G₄)的扣蟹为对象, 并以未经选育的养殖群体扣蟹为对照组, 采用养殖实验、免疫指标测定和攻毒实验等方法, 从生长性能和免疫抗病性能的角度分析并评价不同群体的蟹种质量。结果显示: ①养殖实验中两选育群体的最终体质量和特定增长率(SGR)均优于对照组, 且2龄早熟群体在8—11月的平均体质量始终低于晚熟群体, 但差异不显著; ②养殖效果方面, 三群体成活率和最终产量由大到小依次为早熟G₄、晚熟G₄和对照组, 三群体1龄早熟率的大小次序与之相反, 其中雌体产量和1龄早熟率差异显著; ③免疫指标方面, 两选育组碱性磷酸酶(AKP)和酸性磷酸酶(ACP)活性以及总抗氧化能力(T-AOC)水平均高于对照组, 其中雄体肝胰腺中AKP活性以及雌体血淋巴中T-AOC水平差异显著; ④两选育群体在攻毒实验中最终死亡率均较低, 分别比对照组低29.50%和22.94%。研究表明, 选育G₄扣蟹的生长性能和免疫抗病相关生理指标都表现出了比未选育群体优良的特性, 市场应用和产业化前景广阔。

关键词: 中华绒螯蟹; 扣蟹; 养殖; 免疫性能; 攻毒实验

中图分类号: S 968.25

文献标志码: A

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)具有重要的经济和营养价值, 是我国重要的养殖蟹类之一^[1]。近年来中华绒螯蟹养殖产业发展迅速, 已遍布我国绝大部分地区, 其中长江流域的中华绒螯蟹养殖规模最大, 产量占全国的80%左右, 且主要养殖对象为未经遗传选育的长江水系中华绒螯蟹^[2-3]。由于中华绒螯蟹池塘养殖过程中有捕大留小的习惯, 因而出现逆向选择小规格亲本进行近亲繁殖, 加之不同水系中华绒螯蟹的盲目引进和杂交, 逐步造成长江水系池塘养殖群

体1龄早熟率升高、商品蟹规格较小和抗病力下降等明显的种质退化现象^[4-5]。因此对中华绒螯蟹进行遗传改良, 培育具有生长速率快、抗逆性强的新品种显得尤为关键。

选择育种是一种非常重要的遗传改良方法, 我国相关科研单位自2000年以来已开展多个中华绒螯蟹遗传选育项目, 且已针对中华绒螯蟹的养殖性能选育出一批在生长性状上具有优势的新品种, 其中5个新品种获得国家良种委员会审定^[6]。为了解决中华绒螯蟹上市时间过于集

收稿日期: 2019-01-25 修回日期: 2019-09-05

资助项目: 现代农业产业技术体系专项(CARS-48); 上海市高水平地方高校建设科研项目(A1-2801-18-1003); 上海市科委工程技术中心能力提升项目(16DZ2281200); 深圳市澳华集团股份有限公司横向项目(D-8006-16-0088)

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

中的问题, 本课题组自2010年开始进行中华绒螯蟹2龄早熟群体(early-maturing strain, EM)和2龄晚熟群体(late-maturing strain, LM)的选育研究, 目前已选育至第4代(G₄)扣蟹阶段^[5]。自2龄早熟和2龄晚熟群体的选育工作开展以来, 已分别从养殖性能^[1, 7]、经济效益^[8]、免疫抗病性能^[9]、形态特征^[10]和营养品质^[11]等方面对两群体的选育效果进行评估, 但对于2选育群体的整体蟹种质量尚未作系统的研究, 这不利于选育效果的全面评价和将来的良种推广应用。

优质蟹种入池后生长发育快、成活率高, 可以为高产奠定良好基础, 而劣质蟹种入池后常常暴发病害, 不但造成经济损失, 而且将病原体带入池塘, 后患无穷, 因此蟹种质量的优劣直接关系到成蟹阶段的养殖生产^[12-13]。养殖性能和免疫抗病性能是评价水产动物苗种质量的重要指标, 研究表明生长性状和免疫抗病性能在选育过程中呈现一定的负相关关系, 对其一性状的选育可能会影响到另一性状^[14-15]。为此, 本研究通过相同养殖环境、饲喂管理和初始密度条件下的对比实验评估选育群体在扣蟹阶段的养殖性能, 并通过指标测定和攻毒实验评估蟹种免疫抗病性能, 以期选育工作的进一步开展提供科学依据和参考资料。

1 材料与方法

1.1 大眼幼体来源

实验用2龄早熟品系、2龄晚熟品系和对照组的大眼幼体均来自上海海洋大学如东中华绒螯蟹遗传育种中心, 其中两选育品系由本课题组自2010年底以长江水系养殖和野生中华绒螯蟹为基础群体多年选育而成, 目前已选育至第4代(G₄)扣蟹阶段。2龄早熟、晚熟群体以及对照组雌雄亲本的平均体质量见表1, 其中对照组亲本的平均体质量为生产上正常使用的亲本规格。各群体亲本管理和幼体培育均在相似的池塘条件下进行, 所得大眼幼体于2017年5月上旬运至上海海洋大学崇明产学研基地进行室外网箱养殖。

1.2 养殖管理

实验池塘为12口面积相等的围隔(长×宽=7.8 m×7.8 m), 围隔四周设有双层防逃网, 防逃网上缘设置25 cm防逃塑料板, 为保持水质一致, 围隔之间水体相互连通。围隔中间有一个长×宽×深=6 m×4 m×0.7 m的水坑, 水坑四周为平台, 种植

表1 中华绒螯蟹二龄早熟、晚熟品系及对照组繁殖亲本的平均体质量

Tab. 1 Average weight of the broodstocks of EM, LM and control *E. sinensis*

种群 population	性别 sex	数量/只 number	平均体质量/g average body weight
2龄早熟亲本 EM stocks	雌 female	845	136.19±9.82
	雄 male	315	187.45±12.90
2龄晚熟亲本 LM stocks	雌 female	703	163.72±14.27
	雄 male	258	227.58±17.76
对照组亲本 control stocks	雌 female	926	114.39±8.64
	雄 male	371	162.52±10.44

水稻用以净化水质。为了便于采样和回捕扣蟹, 在水坑中用毛竹架设一个长×宽×高=2 m×2 m×1 m的40目网箱, 且网箱内外缝有30 cm高的防逃塑料板。每个网箱中放置约1 500只大眼幼体, 每组大眼幼体设4个平行网箱, 网箱内放置伊乐藻供其隐蔽和蜕壳。破碎料日投喂量约为1~5 g, 并根据天气和摄食情况适当调整。

中华绒螯蟹在大眼至豆蟹阶段蜕壳频率高、成活率不稳定, 为避免各网箱之间成活率差距悬殊影响最终生长性能的比较, 6月中旬将每个网箱内豆蟹的数量调整为400(雌雄各半), 并将网箱内伊乐藻替换为水花生, 继续进行豆蟹至扣蟹阶段的养殖。每天下午5:30左右投喂扣蟹配合饲料, 投喂量约占扣蟹体质量的1%~5%。网箱中设有小型食台, 每次投喂4 h后, 观察并记录投喂量和饵料残留情况, 据此调整次日投喂量。定期梳理水花生, 使其密度适中, 防止其疯长造成扣蟹缺氧和水质恶化。每2周测量1次水质, pH 7.0~8.5、溶解氧>6 mg/L、氨氮(NH₃-N)<0.5 mg/L、亚硝酸盐<0.05 mg/L。为确保水质良好, 定期换水, 并每隔15 h用聚维酮碘对水体进行消毒。

1.3 数据采集

调整密度前统计每个网箱内豆蟹数量, 并对每个网箱内所有仔蟹进行称重, 据此计算大眼至豆蟹阶段的成活率、增重率(weight gain rate, WGR)和特定增长率(specific growth rate, SGR)。调整密度后, 每月21日用抄网从每个网箱中随机采样200只左右扣蟹, 干毛巾擦干体表水分后采用电子天平精确称重(精确到0.01 g), 准确记录每只扣蟹的性别和体质量, 据此计算每月WGR和SGR, 计算公式^[16]:

$$WGR (\%) = (W_2 - W_1) / W_1 \times 100\% \quad (1)$$

$$SGR (\%/d) = (\ln W_2 - \ln W_1) / (t_2 - t_1) \times 100\% \quad (2)$$

式中, W_1 和 W_2 分别为日龄 t_1 和 t_2 时各组扣蟹的平均体质量(g)。

网箱实验于11月21日停止, 分别统计雌雄个体存活数, 并根据张列士等^[17]的方法判别扣蟹是否性成熟, 用于计算扣蟹成活率和1龄性早熟率。根据网箱中统计的雌雄正常扣蟹和早熟蟹的数量和总重分别计算雌雄扣蟹和早熟蟹的平均体质量, 并根据此计算正常扣蟹、早熟蟹以及总体的产量。对所有的正常扣蟹按照体质量进行规格分级, 分为5级: ≤ 4.00 g、 $4.00 \sim 5.99$ g、 $6.00 \sim 7.99$ g、 $8.00 \sim 11.99$ g、 ≥ 12.00 g, 分别统计3个群体扣蟹各规格等级所占的比例。

1.4 免疫指标测定

从每个群体中分别取雌雄各10只5~8 g扣蟹。用1 mL注射器从扣蟹第三步足基部抽取0.5 mL左右血淋巴, 注入1.5 mL无菌离心管中, 随后解剖取出肝胰腺装入冻存管, 保存于 -80 °C冰箱备用。

血淋巴解冻后, 在4 °C冰浴下用微型匀浆器(德国IKA公司, T10B)匀浆30 s后, 在4 °C、12 000 r/min条件下离心20 min, 取上清液于离心管中用于实验分析。称取0.2 g左右的肝胰腺, 加入1 mL($W:V=1:5$)预冷的生理盐水后, 在4 °C冰浴下用微型匀浆器匀浆30 s后, 在4 °C、12 000 r/min条件下离心20 min, 取中段清液保存于离心管中, 然后再次离心, 取中段清液于离心管中用于实验。采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒对酸性磷酸酶(ACP)和碱性磷酸酶(AKP)活性以及总抗氧化能力(T-AOC)、一氧化氮(NO)的浓度进行测定。

1.5 攻毒实验

2018年3月, 分别从早熟、晚熟群体以及对照组的实验网箱中挑选出四肢健全、活力较好、体质量为5~10 g的扣蟹用于攻毒实验。实验室条件下暂养7 d后开始攻毒实验, 攻毒所用菌株为嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophilia*)Y-2-L-1。根据预实验结果确定嗜水气单胞菌注射量为 0.98×10^8 cfu/g蟹体质量, 注射剂量为 $2.0 \mu\text{L/g}$ 。用电子天平(精确到0.01 g)称量扣蟹体质量, 然后根据体质量, 用微量注射器从扣蟹第三步足基部注射相应的剂量, 每个群体设置3个重复, 每个重复包含30只扣蟹(雌雄各半), 注射后的实验扣蟹养殖于循环水箱中。每天观察并记录扣蟹

死亡情况, 直至连续3 d内无死亡个体便停止实验。

1.6 数据处理

所有数据采用平均值 \pm 标准差表示。使用SPSS 22.0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进行非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异显著, 在Excel和Sigma plot软件上绘制相关图表。

2 结果

2.1 生长性能

两选育群体及对照组在大眼幼体至仔蟹阶段的养殖性能如表2所示, 三群体的平均体质量由大到小分别为早熟、对照、晚熟, 但各组之间差异较小, 均为 $0.4 \sim 0.5$ g; 三群体WGR、SGR和成活率差异与体质量类似, 同样为早熟群体略高于晚熟群体和对照组。

表2 中华绒螯蟹二龄早熟、晚熟品系群体选育G₄在大眼幼体至仔蟹阶段的养殖性能

Tab. 2 Culture performance of the EM, LM and control groups during the juvenile culture stage

项目 index	早熟群体 EM	晚熟群体 LM	对照组 control group
平均体质量/g average body weight	0.463 \pm 0.032	0.423 \pm 0.026	0.431 \pm 0.017
增重率/% WGR	7 623.79 \pm 534.65	6 957.73 \pm 426.18	7 103.27 \pm 291.81
特定增长率/% SGR	14.48 \pm 0.23	14.18 \pm 0.20	14.26 \pm 0.14
成活率/% survival rate	68.90 \pm 2.24	63.20 \pm 9.90	63.11 \pm 3.24

两选育群体和对照组在扣蟹阶段的平均体质量变化情况如图1所示。两选育群体在9—11月的平均体质量一直高于对照组, 并且晚熟群体始终高于早熟群体, 但三群体之间无显著差异($P > 0.05$)。随着养殖实验的进行, 三群体扣蟹的WGR整体上呈下降趋势(图2)。在6—7月时, 雌体中对照组生长较快, 雄体中早熟群体生长较快。无论是雌体还是雄体, 在实验期间晚熟群体生长速率最快, 早熟群体次之, 对照组生长速率较慢(图3)。三群体的SGR变化趋势与

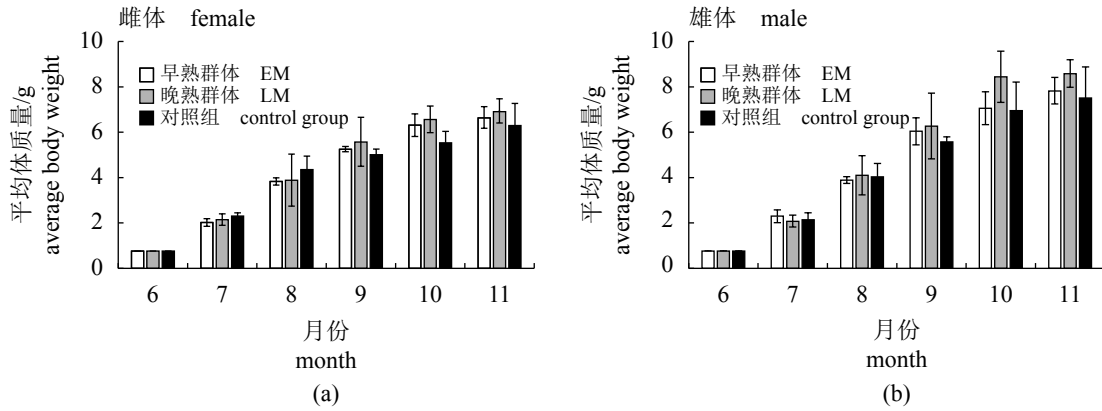


图 1 中华绒螯蟹二龄早熟、晚熟品系群体选育G₄在扣蟹阶段的平均体质量变化

Fig. 1 Average body weight of the EM, LM and control groups during the crabseed culture stage

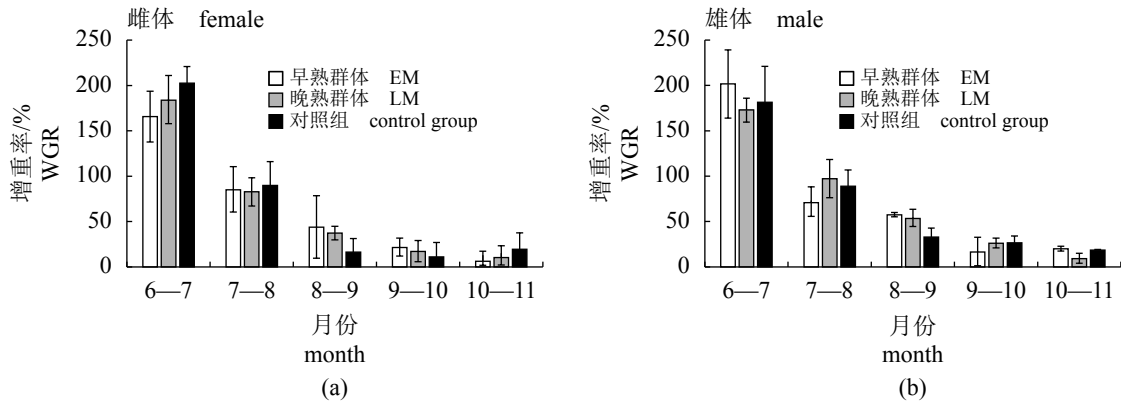


图 2 中华绒螯蟹二龄早熟、晚熟品系群体选育G₄在扣蟹阶段的增重率变化

Fig. 2 WGR of the EM, LM and control groups during the crabseed culture stage

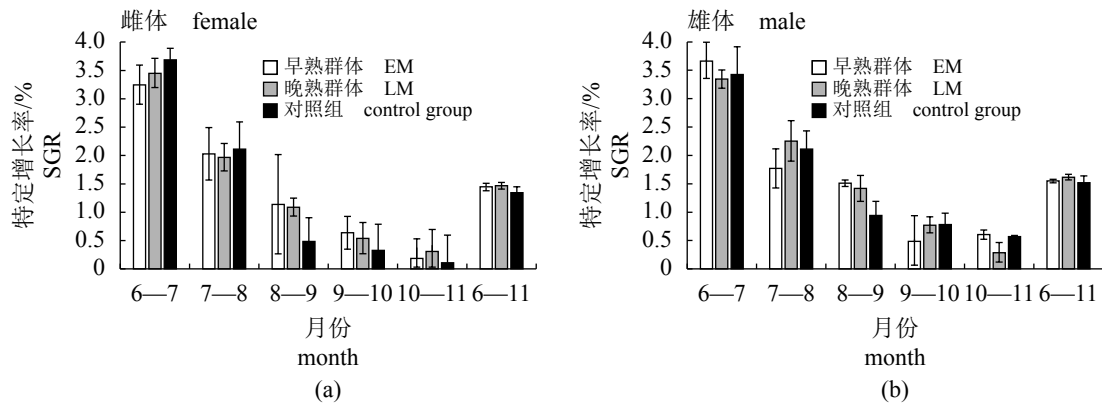


图 3 中华绒螯蟹二龄早熟、晚熟品系群体选育G₄在扣蟹阶段的特定增长率变化

Fig. 3 SGR of the EM, LM and control groups during the crabseed culture stage

WGR类似。

2.2 成活率、早熟率、产量及规格分布

三群体平均体质量的大小次序为晚熟、早熟和对照, 但无显著差异。三群体成活率和产

量的大小次序均为早熟、晚熟、对照, 其中产量差异显著($P < 0.05$)。三群体早熟率大小次序与成活率和产量相反, 其中雄体差异显著(表3)。

2龄早熟雌雄个体分别主要分布于4.00~5.99 g和8.00~11.99 g规格区间内, 分别占总体的29.15%

表 3 中华绒螯蟹二龄早熟、晚熟品系群体选育G₄在扣蟹阶段的成活率、早熟率和产量

Tab. 3 Survival rate, precocious rate and yield of the EM, LM and control groups during the crabseed culture stage

项目 index	雌体 female			雄体 male		
	早熟群体 EM	晚熟群体 LM	对照组 control group	早熟群体 EM	晚熟群体 LM	对照组 control group
平均体质量/g average body weight	6.63±0.50	6.91±0.57	6.60±0.97	7.82±0.60	8.51±1.59	7.51±1.38
成活率/% survival rate	41.00±6.18	36.00±6.95	32.50±3.04	42.13±3.47	34.33±9.09	32.17±4.07
产量/(g/m ²) yield	123.36±23.68 ^a	122.49±20.96 ^a	85.20±12.95 ^b	149.61±18.57 ^a	133.87±9.23 ^{ab}	100.32±9.01 ^b
早熟率/% precocious rate	9.44±2.90	12.49±4.38	15.00±2.11	5.77±3.25 ^b	8.67±4.10 ^{ab}	15.71±2.47 ^a

注：同行数据中不同字母表示差异显著(P<0.05)，下同

Notes: values in the same row with different superscripts are significantly different (P<0.05), the same below

和27.31%；2龄晚熟群体主要分布于8.00~11.99 g规格区间内，分别占雌雄个体的33.85%和26.57%；对照组规格普遍较小，主要规格分布于4.00~5.99 g区间内，分别占雌雄个体的30.79%和29.76%。此外，在8.00~11.99 g规格区间内，2龄晚熟雌体所占比例显著高于对照组(P<0.05) (图4)。

2.3 非特异性免疫指标比较

三群体肝胰腺和血淋巴中非特异性免疫测定结果如表4所示。两选育群体ACP、AKP和T-AOC在肝胰腺中的活性均高于对照组，其中2龄早熟雄体AKP活性显著高于对照组(P<0.05)。此外，雄体对照组肝胰腺中NO含量显著高于2龄早熟个体。

2选育群体AKP和T-AOC在血淋巴中的水平均高于对照组，其中雌体T-AOC水平差异显著(P<0.05)。此外，雌体对照组血淋巴中NO含量显

著高于2龄早熟个体。

2.4 攻毒后的累计死亡率

不同群体攻毒后的死亡主要集中于12~48 h，48 h之后基本无死亡发生(图5)。在整个攻毒实验期间，对照组雌雄个体的累计死亡率一直高于两选育群体。两选育群体的累计死亡率差异较小，2龄晚熟雌雄个体累计死亡率分别比早熟群体高15.00%和4.34%。

3 讨论

3.1 生长性能

体质量的生长情况是衡量扣蟹生长性能最重要的经济性状，关乎蟹种在成蟹阶段的进一步养殖以及最终经济效益^[15]。由于甲壳动物体质量、规格和增重率等与生长相关的经济性状均

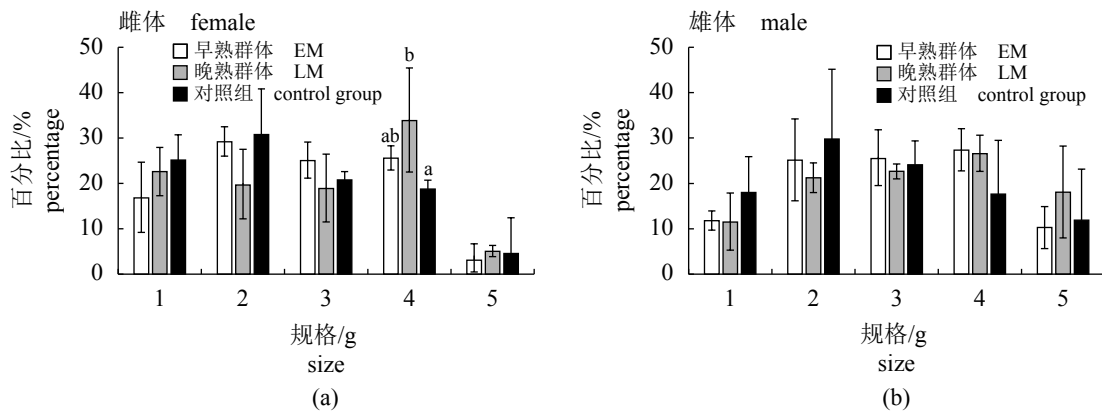


图 4 中华绒螯蟹二龄早熟、晚熟品系群体选育G₄在扣蟹阶段的规格分布

图中上标不同小写字母表示同一规格在不同群体间差异显著(P<0.05)

Fig. 4 Harvest size distribution of different body weight ranges from the EM, LM and control groups

Data with different lowercase letters for the same size among different populations indicate significant differences(P<0.05); 1. <4.00 g, 2. 4.00-5.99 g, 3. 6.00-7.99 g, 4. 8.00-11.99 g, 5. ≥12.00 g

表4 中华绒螯蟹二龄早熟、晚熟品系群体选育G₄血清中非特异性免疫指标测定Tab. 4 Comparison of immune indices and antioxidant ability in the hemolymph and hepatopancreas of juvenile *E. sinensis* from the EM, LM and control groups

项目 index	雌体 female			雄体 male		
	早熟群体 EM	晚熟群体 LM	对照组 control group	早熟群体 EM	晚熟群体 LM	对照组 control group
肝胰腺 hepatopancreas						
ACP/(U/mg prot)	14.23±3.48	14.26±4.63	12.94±5.80	20.49±5.93	17.94±4.82	15.86±4.94
AKP/(U/mg prot)	8.71±2.37	7.88±2.12	6.64±2.26	9.19±3.83 ^b	7.40±2.18 ^{ab}	4.44±0.64 ^a
T-AOC/(U/mg prot)	1.06±0.69	1.42±0.65	0.82±0.74	1.26±0.60	1.56±1.26	1.23±1.14
NO/(μmol/g prot)	107.79±25.79	135.17±33.19	122.53±11.83	117.24±24.63 ^a	138.62±25.13 ^{ab}	175.81±17.89 ^b
血淋巴 hemolymph						
ACP/(U/mg prot)	4.80±1.10	5.12±1.66	4.84±1.62	5.47±1.50	5.13±1.07	4.97±0.90
AKP/(U/mg prot)	1.10±0.48	0.97±0.24	0.88±0.20	1.13±0.16	1.56±1.11	0.88±0.20
T-AOC/(U/mg prot)	6.36±1.04 ^c	5.35±1.46 ^b	4.95±1.52 ^a	5.62±1.39	6.56±1.76	5.05±0.88
NO/(μmol/g prot)	132.31±33.16 ^a	140.65±31.12 ^{ab}	148.17±24.58 ^b	157.56±19.01	160.97±36.01	157.92±32.12

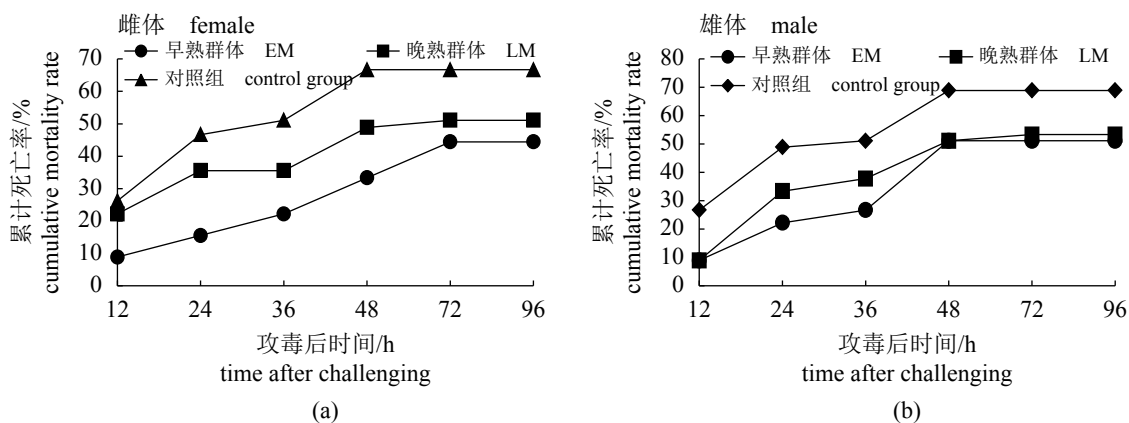


图5 中华绒螯蟹二龄早熟、晚熟品系群体扣蟹在攻毒后的累计死亡率

Fig. 5 Comparison of accumulative mortality of the EM, LM and control groups after challenging by *A. hydrophila*

拥有较高的遗传力, 其表型性状受环境因素的影响较小, 通过选择育种提升甲壳动物生长性能的潜力较大^[18-19]。经过仔蟹至扣蟹阶段的网箱养殖, 两选育群体和未选育群体在相同养殖环境和管理条件下的生长性能差异明显, 具体表现为2龄早熟与2龄晚熟两选育群体雌雄最终规格分别比对照组高5.23%、9.68%和4.12%、14.24, 整体SGR分别比对照组高3.57%、5.00%和1.97%、5.92%。结果证明, 使用大规格中华绒螯蟹亲本进行群体选育可以使有利于生长性能的变异逐步积累, 并能够稳定遗传下去, 从而达到改良蟹种生长性状的目的。本实验中两选育群体的生长性状也存在差异性, 即2龄晚熟群体

的生长性状优于早熟群体, 其结果可能与两选育群体亲本的规格差异相关。

3.2 养殖效果

中华绒螯蟹在扣蟹至扣蟹养殖阶段需要蜕壳4~6次, 而扣蟹在蜕壳期间受到同类干扰以及蜕壳后受到同类蚕食是导致其在扣蟹养殖阶段死亡率高的主要原因之一^[20-21]。本研究中两选育群体成活率分别比未选育群体提高了28.54%和8.78%, 这可能是由于经过连续多代的统一管理和群体选育, 扣蟹蜕壳同步性较好、自残减少, 最终养殖成活率相应提高。在规格差异不大的情况下, 成活率就成为了影响最终产量和

经济效益的主要因素。本实验中选育和未选育组14.85%~45.95%的产量差异,结合优质蟹种售价较高的特点,足以证明两选育组的经济效益优势^[13]。

1龄性早熟现象普遍存在于扣蟹养殖阶段,严重影响着扣蟹养殖的产量和经济效益,因此如何降低1龄早熟率越来越受到养殖户的重视^[22]。本实验中两选育群体的1龄早熟率明显低于未选育群体,这与之前中华绒螯蟹群体选育的效果相一致,由此可见遗传选育可以有效降低中华绒螯蟹1龄早熟率^[23-24]。通过对养殖效果的观察,实验还发现1龄早熟率与成活率和产量呈负相关,证明了集约化养殖对1龄早熟率的抑制作用^[25]。另外,本实验中扣蟹的早熟率明显高于董鹏生等^[26]和王亚威等^[7]在相同网箱条件下扣蟹养殖实验的早熟率,这可能与本实验扣蟹养殖的7—8月经历的高温天气有关^[27]。是否可以通过加高水位、补种水花生或加注新水等方法来降低高温季节的水温,从而降低1龄早熟率,仍有待研究。

3.3 免疫抗病性能

养殖环境恶化、种质资源的破坏与退化导致的疾病滋生和成活率低下一系列问题严重地制约着中华绒螯蟹养殖业的进一步发展,因此免疫抗病性能逐渐成为蟹种质量优良与否的重要指标之一^[15,28]。国内学者已从改善养殖环境^[29]以及添加中草药制剂^[30-31]、免疫增强剂^[32]等方面尝试提高扣蟹免疫抗病性能,但这些措施无法从根本上解决扣蟹养殖中免疫抗病性能低下带来的危害。因此,通过群体选育培育出抗病力强的蟹种,已成为中华绒螯蟹养殖业必须解决的重大问题。

AKP和ACP是甲壳动物免疫反应中2种重要的代谢调控酶,它们能够杀死外来入侵的病原体,并能通过修改病原表面分子来加速吞噬细胞的吞噬以及异物的降解速率,因此可以作为检测扣蟹机体免疫功能状态的有效参考^[33-34]。T-AOC是用于衡量机体抗氧化系统功能状况的综合性指标,它的含量可以反映机体清除氧自由基的能力^[35]。本实验两选育组肝胰腺和血淋巴中AKP、ACP和T-AOC的水平均明显高于对照组,由此反映出选育群体拥有更好的机体免疫力。此外,两选育群体感染嗜水气单胞菌后的死亡率一直低于对照组,从而进一步验证了选育扣蟹良好的抗病性能。本实验中两选育群体的免

疫抗病性能优势可能与选用规格大且健康状况良好的中华绒螯蟹作为亲本有关,而对照组选用小规格群体近亲交配,种质混杂和退化严重,极易导致养殖对象免疫抗病性能低下^[36-37]。从两选育群体的免疫抗病性能优势可以看出,在对生长性状进行选育的同时,选育对象的免疫抗病性能也得到了相应提升,这种选育过程中生长和免疫协同提升的现象在大麻哈鱼(*Oncorhynchus keta*)和大比目鱼(*Hippoglossus hippoglossus*)的选育过程中亦有发现^[38-39]。就两选育群体而言,免疫活力和抗病力较高的群体生长性状较差,二者呈负相关关系,这可能是选育工作进行到一定程度后的必然结果^[14]。如何通过调整选择压力和选育策略来权衡蟹种生长性状与免疫抗病性能之间的关系,值得进一步研究。

综上,通过对两选育群体和对照组各个性状的比较分析,证明经过4代选育后,两选育群体蟹种质量明显优于对照组扣蟹。说明以性腺发育时间和生长性状为选育目标,其免疫力以及抗病性能均得到一定程度的提升,为将来中华绒螯蟹多性状复合选育提供有力参考。

参考文献:

- [1] 何杰. 遗传选育对长江水系中华绒螯蟹养殖性能、遗传多样性和营养品质的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2015: 76-99.
He J. Effect of genetic breeding on the culture performance, genetic diversity and nutritional quality of the Chinese mitten crab[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2015: 76-99(in Chinese).
- [2] 农业部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2016: 44-54.
Fisheries and Fisheries Administration of the Ministry of Agriculture. China fishery statistical yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2016: 44-54(in Chinese).
- [3] 刘青, 刘皓, 吴旭干, 等. 长江、黄河和辽河水系中华绒螯蟹野生和养殖群体遗传变异的微卫星分析[J]. 海洋与湖沼, 2015, 46(4): 958-968.
Liu Q, Liu H, Wu X G, et al. Genetic variation of wild and cultured populations of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* from the Yangtze, Huanghe, and Liaohe river basins using microsatellite marker[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2015, 46(4): 958-968(in Chinese).

- [4] 何杰, 吴旭干, 姜晓东, 等. 野生和人工繁育大眼幼体在成蟹阶段的养殖性能比较[J]. 上海海洋大学学报, 2015, 24(1): 60-67.
He J, Wu X G, Jiang X D, *et al.* Comparison of the culture performance of wild-caught and artificial breeding Chinese mitten crab megalopae reared in the grow-out ponds during the adult *Eriocheir sinensis* culture stage[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2015, 24(1): 60-67(in Chinese).
- [5] 何杰, 吴旭干, 龙晓文, 等. 长江水系中华绒螯蟹野生和养殖群体选育子一代养殖性能和性腺发育的比较[J]. 海洋与湖沼, 2015, 46(4): 808-818.
He J, Wu X G, Long X W, *et al.* Culture performance and gonadal development of the first generation of selectively-bred Chinese mitten crabs from wild and cultured populations[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2015, 46(4): 808-818(in Chinese).
- [6] Wang J, Xu P, Zhou G, *et al.* Genetic improvement and breeding practices for Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2018, 49(2): 292-301.
- [7] 王亚威, 姜晓东, 吴旭干, 等. 中华绒螯蟹二龄早熟和晚熟群体选育第三代在扣蟹阶段的养殖性能评价[J]. 上海海洋大学学报, 2016, 25(5): 668-674.
Wang Y W, Jiang X D, Wu X G, *et al.* The evaluation of culture performance of the second-year early-maturing and late-maturing strains of the third selective generation during the juvenile culture of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2016, 25(5): 668-674(in Chinese).
- [8] 刘乃更, 姜晓东, 刘青, 等. 河蟹二龄早熟品系蟹种的池塘养殖中试与效果评价[J]. 科学养鱼, 2016(9): 50-52.
Liu N G, Jiang X D, Liu Q, *et al.* Evaluation on culture effect of the second-age early-maturing trains of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*[J]. Scientific Fish Farming, 2016(9): 50-52(in Chinese).
- [9] 姜晓东, 吴旭干, 何杰, 等. 中华绒螯蟹2龄早熟、晚熟选育群体和非选育群体蟹种免疫性能的比较[J]. 海洋渔业, 2017, 39(2): 181-189.
Jiang X D, Wu X G, He J, *et al.* Comparison of immune performance of juvenile crabseeds among the second instar early-maturing, late-maturing and non-selective populations of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*[J]. Marine Fisheries, 2017, 39(2): 181-189(in Chinese).
- [10] 姜晓东, 吴旭干, 何杰, 等. 遗传选育对野生和养殖中华绒螯蟹种形态学特征的影响[J]. 水产学报, 2018, 42(8): 1285-1298.
Jiang X D, Wu X G, He J, *et al.* Effects of selective breeding on the morphological characteristics of wild and cultured juvenile Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2018, 42(8): 1285-1298(in Chinese).
- [11] 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(in Chinese).
- [12] 姜晓东. 不同来源中华绒螯蟹种质量评价的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017.
Jiang X D. Quality evaluation of crabseed from different sourced *Eriocheir sinensis*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017(in Chinese).
- [13] 王少兵, 姜晓东, 张金彪, 等. 两种投饲模式下中华绒螯蟹扣蟹池塘养殖效果比较[J]. 水产科技情报, 2018, 45(3): 162-166.
Wang S B, Jiang X D, Zhang J B, *et al.* Comparison of pond culture effects of juvenile *Eriocheir sinensis* under two feeding modes[J]. Fisheries Science & Technology Information, 2018, 45(3): 162-166(in Chinese).
- [14] Argue B J, Arce S M, Lotz J M, *et al.* Selective breeding of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for growth and resistance to Taura Syndrome Virus[J]. Aquaculture, 2002, 204(3-4): 447-460.
- [15] Racotta I S, Palacios E, Ibarra A M. Shrimp larval quality in relation to broodstock condition[J]. Aquaculture, 2003, 227(1-4): 107-130.
- [16] He J, Wu X G, Li J Y, *et al.* 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[J]. Aquaculture, 2014, 434: 48-56.

- [17] 张列士, 徐琴英. 自然及养殖水体河蟹性成熟和性早熟的研究[J]. *水产科技情报*, 2001, 28(3): 106-111.
Zhang L S, Xu Q Y. Studies on sex maturity and early maturity of mitten crab (*Eriocheir sinensis*) in natural and farming water[J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2001, 28(3): 106-111(in Chinese).
- [18] Preston N P, Crocos P J H, Keys S J, *et al.* Comparative growth of selected and non-selected Kuruma shrimp *Penaeus (Marsupenaeus) japonicus* in commercial farm ponds; implications for broodstock production[J]. *Aquaculture*, 2004, 231(1-4): 73-82.
- [19] Rutten M J M, Bovenhuis H, Komen H. Genetic parameters for fillet traits and body measurements in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.)[J]. *Aquaculture*, 2005, 246(1-4): 125-132.
- [20] 赵恒亮, 何杰, 吴旭干, 等. 池塘养殖中华绒螯蟹扣蟹附肢自切规律的研究[J]. *生物学杂志*, 2015, 32(1): 10-13.
Zhao H L, He J, Wu X G, *et al.* Study of limb autotomy patterns of juvenile Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) reared in earth ponds[J]. *Journal of Biology*, 2015, 32(1): 10-13(in Chinese).
- [21] 朱王玲, 姜晓东, 吴旭干, 等. 中华绒螯蟹一龄早熟和二龄成熟家系生长规律的比较研究[J]. *动物学杂志*, 2017, 52(6): 1037-1047.
Zhu W L, Jiang X D, Wu X G, *et al.* The comparative study on growth characteristics of offspring from one-year precocious and two-year normally mature Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2017, 52(6): 1037-1047(in Chinese).
- [22] Li X, Li Z, Liu J, *et al.* Advances in precocity research of the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* [J]. *Aquaculture International*, 2011, 19(2): 251-267.
- [23] 朱清顺, 柏如发, 邓燕飞. 中华绒螯蟹‘长江一号’生长性能比较研究[J]. *农学学报*, 2012, 2(1): 53-57.
Zhu Q S, Bai R F, Deng Y F. Comparison on growth performance of crab (*Eriocheir sinensis*) strain Chang Jiang 1 [J]. *Journal of Agriculture*, 2012, 2(1): 53-57(in Chinese).
- [24] 郑岩, 徐显峰. “光合1号”蟹苗与非选育蟹苗的对比养殖试验[J]. *科学养鱼*, 2013(11): 31-32.
Zheng Y, Xu X F. Comparative culture experiment of "Guanghe No. 1" and non-selected crabseed [J]. *Scientific Fish Farming*, 2013(11): 31-32(in Chinese).
- [25] Li X D, Dong S L, Lei Y Z, *et al.* The effect of stocking density of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* on rice and crab seed yields in rice-crab culture systems [J]. *Aquaculture*, 2007, 273(4): 487-493.
- [26] 董鹏生, 刘青, 吴旭干, 等. 中华绒螯蟹一龄性早熟和二龄成熟家系扣蟹阶段生长和早熟的比较研究[J]. *上海海洋大学学报*, 2016, 25(1): 51-60.
Dong P S, Liu Q, Wu X G, *et al.* The comparison of the growth and precocity of juvenile *Eriocheir sinensis* from one-year precocious family and two-year normally mature family during the first year culture stage [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2016, 25(1): 51-60(in Chinese).
- [27] 徐如卫, 江锦坡, 陆开宏, 等. 河蟹性早熟原因的初步研究[J]. *浙江海洋学院学报(自然科学版)*, 2001, 20(3): 195-198.
Xu R W, Jiang J P, Lu K H, *et al.* A preliminary study on causes of sexual premature of *Eriocheir sinensis* [J]. *Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science)*, 2001, 20(3): 195-198(in Chinese).
- [28] Behringer D C. Diseases of wild and cultured juvenile crustaceans: insights from below the minimum landing size [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2012, 110(2): 225-233.
- [29] 李廷友, 阎斌伦, 田永祥, 等. 有机养殖扣蟹对养殖水体环境质量的影响研究[J]. *连云港师范高等专科学校学报*, 2005(4): 85-89.
Li T Y, Yan B L, Tian Y X, *et al.* Effects of organic aquaculture on freshwater quality of Chinese mitten crab (larval crab) [J]. *Journal of Lianyungang Teachers College*, 2005(4): 85-89(in Chinese).
- [30] 马盛群, 陈红军. 中草药对高水温胁迫下中华绒螯蟹非特异性免疫因子的影响[J]. *淡水渔业*, 2013, 43(6): 62-66.
Ma S Q, Chen H J. Effects of Chinese herbal medicine on non-specific immune factors of juvenile *Eriocheir sinensis* under high water temperature stress [J]. *Freshwater Fisheries*, 2013, 43(6): 62-66(in Chinese).
- [31] 周永昌, 姜晓东, 龙晓文, 等. 中草药对中华绒螯蟹幼蟹生长及免疫力的影响[J]. *水产科学*, 2019, 38(2): 188-193.
Zhou Y C, Jiang X D, Long X W, *et al.* Effects of Chinese herbal compounds on growth performance and immune capacities of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 38(2): 188-193.

- sinensis*[J]. *Fisheries Science*, 2019, 38(2): 188-193(in Chinese).
- [32] 王习达, 陈焕根, 王胜男, 等. 氨基多糖螯合盐对扣蟹非特异性免疫力的影响[J]. *安徽农业科学*, 2016, 44(28): 133-135.
Wang X D, Chen H G, Wang S N, *et al.* Effects of the amino polysaccharide chelate salt on nonspecific immunity of buckle crab[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2016, 44(28): 133-135(in Chinese).
- [33] Xue Q G, Renault T. Enzymatic activities in European flat oyster, *Ostrea edulis*, and Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, hemolymph[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2000, 76(3): 155-163.
- [34] Muta T, Iwanaga S. The role of hemolymph coagulation in innate immunity[J]. *Current Opinion in Immunology*, 1996, 8(1): 41-47.
- [35] 王一娟, 何义进, 谢骏, 等. 抗菌肽对河蟹生长、免疫及抗氧化能力的影响[J]. *江苏农业科学*, 2011, 39(2): 340-343.
Wang Y J, He Y J, Xie J, *et al.* Effects of antibacterial peptide on growth, factors associated with immunity and antioxidation of *Eriocheir sinensis*[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2011, 39(2): 340-343(in Chinese).
- [36] Moss D R, Arce S M, Otoshi C A, *et al.* Effects of inbreeding on survival and growth of Pacific white shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*[J]. *Aquaculture*, 2007, 272(S1): S30-S37.
- [37] Luo K, Kong J, Luan S, *et al.* Effect of inbreeding on survival, WSSV tolerance and growth at the postlarval stage of experimental full-sibling inbred populations of the Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*[J]. *Aquaculture*, 2014, 420-421: 32-37.
- [38] Beacham T D, Evelyn T P T. Genetic variation in disease resistance and growth of chinook, coho, and chum salmon with respect to vibriosis, furunculosis, and bacterial kidney disease[J]. *Transactions of the American Fisheries Society*, 1992, 121(4): 456-485.
- [39] Imsland A K, Jonassen T M, Langston A, *et al.* The interrelation of growth and disease resistance of different populations of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.)[J]. *Aquaculture*, 2002, 204(1-2): 167-177.

Evaluation of culture and immunity performance of the second-year-old early-maturing and late-maturing strains of the fourth selective generation during the juvenile culture of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)

WANG Haining¹, JIANG Xiaodong¹, WU Xugan^{1,2,3,4}, DENG Deng^{2,5},
XIANG Chaolin^{2,5}, CHENG Yongxu^{1,3,4*}

- (1. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Zhejiang Aoling Aquaculture Seed Industry Co., Ltd., Changxing 313100, China;
3. Shanghai Collaborative Innovation Center for Aquatic Animal Genetics and Breeding, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
4. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
5. Shenzhen Aohua Agriculture and Animal Husbandry Co., Ltd., Shenzhen 518054, China)

Abstract: When breeding for some specific parameters, relevant parameters always undergo covariation. A selective breeding program has been operated on *Eriocheir sinensis* for different mature time and culture performance equally since 2011, but crabseed quality of selected populations has not been evaluated yet. This study was aimed to evaluate the crabseed quality of two selected populations (early-maturing strain: EM, late-maturing strain: LM) compared to pond-reared crabseed without selection (control). The results showed that: ① The final weight and specific growth rate (SGR) of two selected populations were both relatively higher than those of the control all through the experiment, and the average weight of EM was lower than the LM between August and November, but no significant difference was observed. ② The order of survival rate and final yield was EM > LM > control with significant difference in yield of females, the order of precocious rate was opposite with significant difference in females as well. ③ As for the immune index, the levels of alkaline phosphatase (AKP), acid phosphatase (ACP) and total antioxidant capacity (T-AOC) in hepatopancreas and hemolymph of both selected populations were higher than the control, with significant difference of ALP level in hepatopancreas of females and significant difference of T-AOC level in hemolymph of males. ④ The injection of *Aeromonas hydrophilia* resulted in both lower (29.50% and 22.94%, respectively) cumulative mortalities of two selected populations. In conclusion, selection for different mature time and culture performance of *E. sinensis* also presented an effective improvement in their crabseed quality.

Key words: *Eriocheir sinensis*; juvenile; cultivation; immune performance; pathogen challenge

Corresponding author: CHENG Yongxu. E-mail: yxcheng@shou.edu.cn

Funding projects: China Agriculture Research System (CARS-48); Local Universities from Shanghai Municipal Science and Technology Commission (A1-2801-18-1003); Ability Promotion Project of Engineering Technology Center of Shanghai Science and Technology Commission (16DZ2281200); Crossing Research Project of Shenzhen Aohua Agriculture and Animal Husbandry Co., Ltd. (D-8006-16-0088)