

刘永鑫,张殿福,陶忠虎,等.温度对克氏原螯虾胚胎和幼体发育的影响[J].华中农业大学学报,2021,40(5):146-153.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2021.05.018

温度对克氏原螯虾胚胎和幼体发育的影响

刘永鑫¹,张殿福¹,陶忠虎²,付峰³,顾泽茂¹

1.华中农业大学水产学院/华中农业大学双水双绿研究院/湖北省水生动物病害防控工程技术研究中心/

教育部长江经济带大宗水生生物产业绿色发展工程研究中心,武汉 430070;

2.湖北省潜江市农业事业发展中心,潜江 433100; 3.湖北省潜江市农业农村局,潜江 433100

摘要 为确定克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)胚胎和幼体发育的最佳温度,设置19、22、25、28℃4个温度,观察各温度条件下克氏原螯虾胚胎和幼体发育过程,记录不同温度下胚胎和幼体阶段的成活率、发育速率、生物学零度和有效积温。结果显示:温度对克氏原螯虾胚胎孵化率、孵化时间及幼体发育速率和成活率均有显著影响,在试验温度(19~28℃)范围内,胚胎发育进程随温度升高而加快,19℃和28℃条件下胚胎孵化时间分别为(622.67±6.02) h 和(349.67±4.63) h;胚胎孵化率随温度升高呈现“先升后降”的趋势,在22℃时孵化率最高,为91.03%±2.97%,28℃时孵化率最低,仅为40.53%±4.97%;幼体发育时间随温度升高而缩短,19℃和28℃条件下幼体阶段发育所需时间分别为(304.00±10.73) h 和(194.00±9.03) h;幼体成活率随温度升高呈现“先升后降”的趋势,水温22℃时,成活率最高(94.37%±1.60%),水温28℃时,成活率最低(82.67%±1.51%)。采用Sanderson-Pearis公式,计算得出克氏原螯虾胚胎和幼体发育的生物学零度分别为7.32、3.29℃。根据所建立的胚胎和幼体发育的温度依赖性发育模型推算出,克氏原螯虾胚胎和幼体发育的最适温度分别为22.06和22.78℃。综合各项指标,建议克氏原螯虾人工繁育过程中胚胎和幼体发育的温度范围设置为22~25℃。

关键词 克氏原螯虾; 胚胎发育; 幼体发育; 孵化率; 成活率; 温度

中图分类号 Q 959.223⁺.63 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2021)05-0146-08

克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)俗称小龙虾,是一种重要的淡水经济虾类,具有掘洞、爬行等生物习性,能有效利用稻田空间、稻秆和水资源进行繁育与生长,与水稻构成了和谐的生态系统,形成“双水双绿”种养体系^[1]。因此,兴起于21世纪初的“虾稻共作”模式,近年来在我国发展迅速,2019年全国克氏原螯虾稻田种养面积达110.59万hm²,产量177.25万t^[2]。然而,克氏原螯虾产业在快速发展的过程中,苗种供应成为最大难题。早期克氏原螯虾的苗种主要为捕捞湖泊和沟渠的野生苗,后期主要通过稻田投放种虾或留种育苗,这种稻田育苗方式难以满足大面积扩张过程中的苗种需求,很多地方出现了“一苗难求”的现象^[3]。

温度是影响虾类生长发育的重要环境因子之一,确定克氏原螯虾苗种孵化的适宜温度,是人工繁

育所必需掌握的生物学基础。关于温度对克氏原螯虾繁殖与发育的影响,已有一些报道^[4-7],但对胚胎和幼体发育的适宜温度范围研究结果不一致,同时,缺乏不同温度下的成活率数据。笔者比较了不同温度下克氏原螯虾胚胎和幼体的发育速率和成活率,系统观察了克氏原螯虾胚胎和幼体发育时期的形态变化,以期补充克氏原螯虾的发育生物学数据,为稻田繁育虾苗提供技术支撑,并在实践操作中指导养殖户通过调节水温提早繁育虾苗。

1 材料与方法

1.1 试验材料及试验设计

试验用克氏原螯虾亲虾采自监利县双水双绿示范基地,体质量(25.02±1.05) g。在室内进行人工交配,每天观察亲虾繁殖情况,发现抱卵虾及时取

收稿日期: 2021-01-09

基金项目:国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”专项(2020YFD0900303);中央高校基本科研业务费专项(2662018YJ020);湖北省农业科技创新中心项目(2019-620-000-001-33)

刘永鑫,E-mail:1085704661@qq.com

通信作者:顾泽茂,E-mail:guzemao@mail.hzau.edu.cn

出。试验用水为曝气24 h的自来水,溶氧量保持在(8.0±0.5) mg/L,氨氮水平(0.02±0.01) mg/L,pH 8.0~8.5。试验容器为60 cm×40 cm×20 cm的塑料水槽,加热棒控制水温。

设置19、22、25、28 °C 4个温度处理组,温差不超过±0.5 °C。每个温度梯度放12尾抱卵虾,其中6尾用于胚胎和幼体发育成活率的计算,6尾用于发育过程的跟踪观察^[8]。水槽中始终保持20 L试验用水。增氧泵持续向水槽充气,每2 d换1次水,每次换水体的1/2,换同等水温的曝气水。

1.2 样本采集与观察

采集抱卵虾的受精卵,根据胚胎发育情况,抱卵初期每2 h取样观察1次;胚胎发育到囊胚期之后每4 h取样观察1次;胚胎进入原肠胚和器官发生期后,每12 h取样观察1次。每次取表层卵5~8粒,在体视显微镜(Leica M205 FA)下观察拍照,记录各期发育特征。每天早、晚各检查1次,清除死卵。幼体全部孵出后,统计胚胎的孵化时间和孵化率,孵化时间为半数幼体出膜的时间。

幼虾出膜后每12 h观察1次,直至卵黄囊消失。每次每个重复随机取样3~5尾,在体视显微镜(Olympus SZX16)下观察拍照,记录幼体形态特征。每天早、晚各检查1次,清除死虾,幼虾死亡以心脏停止跳动为准。统计幼体阶段的发育时间和成活率,发育时间为半数幼体到达该期的时间。

1.3 数据统计分析与计算

胚胎孵化率(R_H ,%)、幼体从孵化到IV期的成活率(R_{IV} ,%)、生物学零度(C, °C)及有效积温(K , °C·h)采用以下公式计算:

$$R_H = (N_M / N_E) \times 100\%$$

$$R_{IV} = (N_{IV} / N_0) \times 100\%$$

$$C = \frac{\sum v^2 \Sigma T - \Sigma v \Sigma v T}{n \sum v^2 - (\Sigma v)^2}$$

$$K = t(T - C)$$

式中, N_E 为亲本怀卵量; N_M 为幼体孵化总量; N_{IV} 为IV期幼体数量; N_0 为试验开始时幼体总数; t 为发育时间; v 为发育速率(1/N); T 为平均水温, °C; C 为发育的生物学零度, °C^[9]。

试验数据均表示为平均值±标准差(Mean±SD),利用SPSS 26.0对数据进行单因素方差分析和多重比较,以 $P<0.05$ 表示差异显著。数据之间的关系采用统计作图软件GraphPad 8.0进行曲线拟合分析。

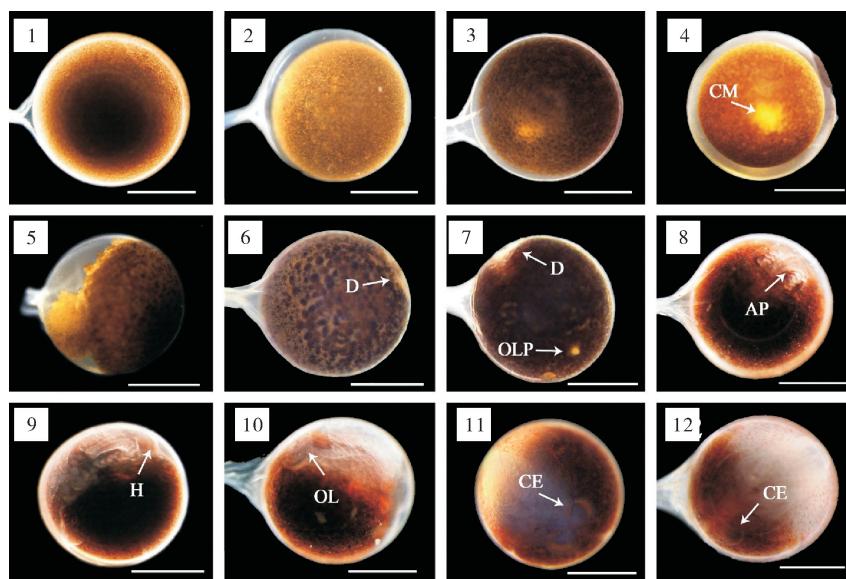
2 结果与分析

2.1 温度对胚胎发育的影响

1)胚胎发育分期。参照堵南山^[10]对螯虾类胚胎发育的分期,将克氏原螯虾胚胎发育过程分为I~VI期6个阶段(图1)。各期主要特征如下:I期(受精卵期):胚胎呈球形,不透明,质膜紧贴,卵质表面没有隆起(图1-1);II期(卵裂期):质膜分离,颜色略有加深(图1-2);III期(囊胚期):卵黄表面分裂,形成放射状排列的初级卵黄锥体,卵中央部分不分裂,即为中央质(图1-3、1-4);IV期(原肠胚和器官发生期):细胞开始凹陷,胚孔形成,2对视叶原基出现(图1-5、1-6、1-7);V期(卵内无节幼体期):2对触角原基与3对颚足原基相继形成,开始出现淡黄色的囊状心脏(图1-8、1-9);VI期(卵内蚤状幼体期):胸肢和腹肢原基陆续出现,复眼形成,心跳频率增加且节律趋于稳定(图1-10、1-11、1-12)。

2)温度对胚胎孵化率的影响。在试验温度(19~28 °C)范围内,克氏原螯虾胚胎均能正常孵化。温度对孵化率有显著影响($P<0.05$,表1),随着温度的升高,孵化率呈现“先升后降”的趋势,水温22 °C时孵化率最高,为91.03%±2.97%;水温28 °C时孵化率最低,为40.53%±4.97%,且显著低于其他3组($P<0.05$)。温度(T)与孵化率(R_H)的关系可以用二项方程式较好地拟合: $R_H = -1.515T^2 + 66.83T - 641.5$, $R^2 = 0.935$ ($P<0.01$,图2),根据曲线拟合方程计算得出22.06 °C时孵化率最高。

3)温度对胚胎发育持续时间的影响。由表2可知,温度对克氏原螯虾胚胎各阶段发育时间均有显著影响($P<0.05$),同一温度不同胚胎阶段历时也不相同。其中,原肠胚和器官发生期历时最长,为(111.33±3.01)~(205.33±3.27) h,占32.20%~33.01%;卵内蚤状幼体期是耗时第二长的阶段,占29.13%~29.27%;卵内无节幼体时期耗时略低于前两者,占22.70%~25.24%,其他几个阶段耗时都比较少,总和不超过胚胎发育总时间的15%。整体来看,在19~28 °C内,胚胎发育速率随温度的升高而加快,水温19 °C时的孵化时间最长,为(622.67±6.02) h;水温28 °C时,孵化时间最短,为(349.67±4.63) h。温度(T)与孵化时间(D)的关系可以用二项方程式较好地拟合: $D = 0.1709 T^2 - 9.254 T + 139.9$, $R^2 = 0.984$ ($P<0.01$,图3),根据曲线拟合方程计算得出,27.07 °C时胚胎孵化速度最快。



1.受精卵；2.卵裂期；3~4.囊胚期；5~7.原肠胚和器官发生期；8~9.卵内无节幼体期；10~12.卵内蚤状幼体期。CM:中央质; OLP: 视叶原基; D:胚孔; AP:触角原基; H:心脏; OL:视叶; CE:复眼。标尺:1 mm。1. Zygote; 2. Cleavage stage; 3-4. Blastula stage; 5-7. Gastrula and organogenesis stage; 8-9. Nauplius stage; 10-12. Zoea stage. CM: Central mass; OLP: Optic-lobe primordium; D: Gastrula with dent; AP: Antenna-primeordium; H: Heart; OL: Optic lobe; CE: Compound eyes. Scalebars are 1 mm.

图1 克氏原螯虾胚胎发育阶段

Fig.1 Embryonic development stage of *Procambarus clarkii*

表1 不同温度下克氏原螯虾孵化率和幼体成活率

Table 1 Hatching rate and larval survival rate of *Procambarus clarkii* at different temperature

温度/℃ Temperature	孵化率/% Hatching rate	幼体存活率/% Survival rate of larval
19	82.83±5.15b	87.20±2.20c
22	91.03±2.97a	94.37±1.60a
25	86.87±4.52ab	90.30±1.75b
28	40.53±4.97c	82.67±1.51d

注:同列数据不同字母标记表示差异显著($P < 0.05$)。Note: In the same column, the different letter mean significant difference ($P < 0.05$).

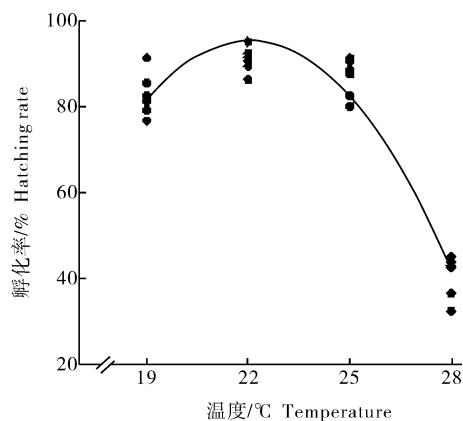


图2 克氏原螯虾孵化率和水温的关系

Fig.2 The relationship between hatching rate and water temperature

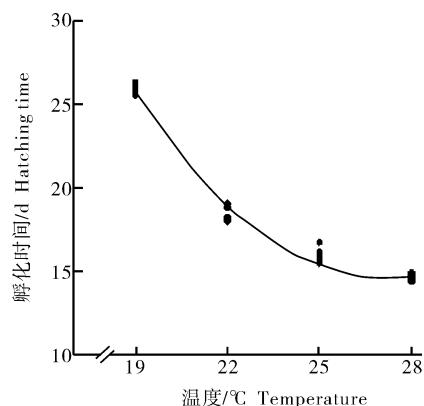


图3 克氏原螯虾孵化时间和水温的关系

Fig.3 The relationship between hatching time and water temperature

4)胚胎发育的生物学零度及温度与有效积温的关系。采用 Sanderson-Pearis 公式,计算得出克氏原螯虾胚胎发育的生物学零度为 7.32°C ,即水温低于 7.32°C ,胚胎停止发育。将 $C=7.32$ 代入公式 $K=t(T-C)$ 中,计算不同温度下胚胎发育的有效积温,由表 2 可知,温度对其有显著影响($P < 0.05$),在试验温度($19 \sim 28^{\circ}\text{C}$)范围内,随温度的升高,胚胎发育的有效积温“先降后升”,水温 22°C 时所需要的有效积温最低,为 $(6494.58 \pm 150.21)^{\circ}\text{C} \cdot \text{h}$ 。

表2 不同温度下克氏原螯虾胚胎各阶段的发育时间

Table 2 Development time of embryo stages of *Procambarus clarkii* at different temperatures

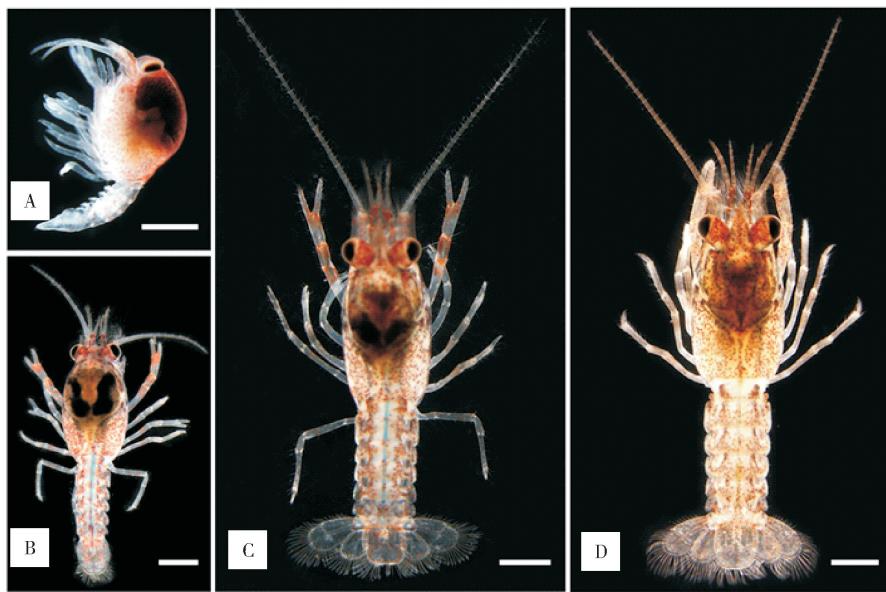
项目 Item	19 ℃	22 ℃	25 ℃	28 ℃
受精卵 Zygote	10.33±1.51a	8.33±0.82b	7.67±0.82b	7.67±0.82b
卵裂期 Cleavage stage	22.67±1.63a	21.67±1.51b	18.67±1.03c	18.33±0.82c
囊胚期 Blastula stage	38.33±1.51a	33.67±1.51b	31.33±1.03c	30.33±1.51c
持续发育时间/h Duration of development	205.33±3.27a	132.67±3.01b	124.67±3.93c	111.33±3.01d
原肠胚和器官发生期 Gastrula and organogenesis stage	162.00±6.57a	112.00±6.20b	90.00±6.57c	80.00±6.20d
卵内无节幼体期 Nauplius stage	184.00±6.20a	134.00±4.90b	110.00±4.90c	102.00±6.57d
卵内蚤状幼体期 Zoea stage				
发育总历时/h Total duration of development	622.67±6.02a	442.33±10.23b	382.33±11.27c	349.67±4.63d
有效积温/(℃·h) Effective accumulative temperature	7 274.33±70.35a	6 494.58±150.21b	6 760.63±199.32c	7 232.00±95.83a
生物学零度/℃ Biological zero		7.32		

注:同行数据不同字母标记表示差异显著($P<0.05$)。下同。Note: In the same line, the different letter mean significant difference ($P<0.05$). The same as below.

2.2 温度对幼体发育的影响

1) 幼体发育分期。根据其外部形态特征,将克氏原螯虾幼体发育阶段分为4个时期(图4)。各期主要特征如下:I期幼体,即刚破膜的幼体,头胸部充满卵黄,无眼柄;胸肢5对,不具摄食能力;腹肢4对,较成体少1对;尾部不能打开;附肢均无刚毛(图4A)。I期幼体经1次蜕壳后为II期幼体,该时期眼柄出现,头胸部卵黄囊呈“U”型,随发育进程会逐

渐缩小呈“V”型;胸肢开始具备摄食能力;附肢边缘开始长出刚毛(图4B)。幼体第2次蜕壳后进入III期幼体发育阶段,头胸部卵黄囊呈“V”型,随发育进程会逐渐消失;第一胸足螯钳能自由张合,可有效捕食和抵御小型生物;第1、2触角环节数增加,尾部可自由张合(图4C)。幼体第3次蜕壳后进入IV期幼体发育阶段,该时期眼柄发育已基本成形,头胸部卵黄囊消失;第一腹肢出现,腹肢变为5对,布



A. I期幼体; B. II期幼体; C. III期幼体; D. IV期幼体。标尺:1 mm。A. Larval stage I; B. Larval stage II; C. Larval stage III; D. Larval stage IV. Scalebars are 1 mm.

图4 克氏原螯虾幼体发育阶段

Fig.4 Larval development stage of *Procambarus clarkii*

满刚毛;头胸甲壳颜色变深,肉眼已看不到腹内消化道(图 4D)。此时幼体已基本完成了外部结构的发育,之后便开始进入仔虾发育阶段。

2)温度对幼体成活率的影响。在试验温度(19~28 ℃)范围内,克氏原螯虾幼体成活率均可达80%以上。由图 5 可知,幼体成活率随温度的升高呈现“先升后降”的趋势。水温 22 ℃时,幼体成活率最高,为 94.37%±1.60%;水温 28 ℃时,幼体成活率最低,为 82.67%±1.51%,且各温度组幼体成活率差异显著($P<0.05$,表 1)。温度(T)与幼体成活率(R_{IV})的关系可以用二项方程式较好地拟合:

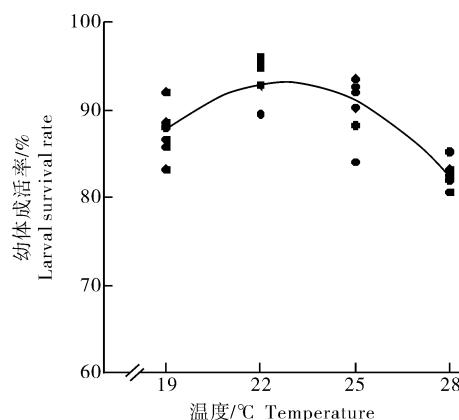


图 5 克氏原螯虾幼体成活率和水温的关系
Fig.5 The relationship between larval survival rate and water temperature

$R_{IV} = -0.4111T^2 + 18.73T - 119.9, R^2 = 0.838$ 4 ($P<0.01$, 图 5), 根据曲线拟合方程计算得出 22.78 ℃时幼体成活率最高。

3)温度对幼体发育持续时间的影响。由表 3 可知,温度对克氏原螯虾幼体各阶段发育时间均有显著影响($P<0.05$),同一温度不同幼体阶段历时也不相同。其中,Ⅲ期幼体发育持续时间最长,为(76.00±6.20)~(120.00±6.20) h,占 38.68%~39.84%;Ⅱ期幼体发育次之,占 31.96%~33.02%;Ⅰ期幼体发育持续时间最短,占 27.63%~29.25%。整体来看,在试验温度(19~28 ℃)范围内,温度对幼体发育速度有显著影响($P<0.05$)。水温 19 ℃时,幼体发育时间最长,为(304.00±10.73) h;水温 28 ℃时,幼体发育时间最短,为(194.00±9.03) h。温度(T)与发育时间(D)的关系可以用二项方程式较好地拟合: $D = 0.03472 T^2 - 2.151 T + 41.05, R^2 = 0.966$ 2 ($P<0.01$, 图 6),根据曲线拟合方程计算得出,30.98 ℃时幼体发育最快。

4)幼体发育的生物学零度及温度与有效积温的关系。采用 Sanderson-Pearis 公式,计算得出克氏原螯虾幼体发育的生物学零度为 3.29 ℃,即水温低于 3.29 ℃,幼体停止发育。将 $C = 3.29$ 代入公式 $K = t(T-C)$ 中,计算不同温度对应的幼体发育有效积温,由表 3 可知,在试验温度范围内,温度对幼体发育有效积温无显著影响($P>0.05$)。

表 3 不同温度下克氏原螯虾幼体各阶段的发育时间
Table 3 Development time of larvae stages of *Procambarus clarkii* at different temperatures

项目 Item	19 ℃	22 ℃	25 ℃	28 ℃
持续发育时间/h Duration of development	I 期幼体 Larval stage I 84.00±7.59a	72.00±7.59b	62.00±4.90c	56.00±6.20c
	II 期幼体 Larval stage II 100.00±6.20a	82.00±4.90b	70.00±9.03c	62.00±4.90c
	III 期幼体 Larval stage III 120.00±6.20a	102.00±6.57b	82.00±4.90c	76.00±6.20c
发育总历时/h Total duration of development	304.00±10.73a	256.00±9.80b	212.00±6.20c	194.00±9.03d
有效积温/(℃·h) Effective accumulative temperature	4 777.12±168.66a	4 790.84±183.36a	4 603.41±134.56a	4 794.36±223.24a
生物学零度/℃ Biological zero	3.29			

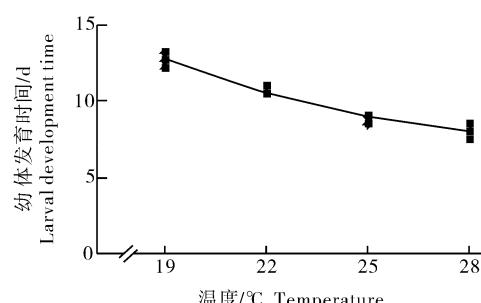


图 6 克氏原螯虾幼体发育时间和水温的关系
Fig.6 The relationship between larval development time and water temperature

3 讨论

3.1 温度对克氏原螯虾胚胎发育的影响

在胚胎发育过程中,卵黄物质为主要营养来源,升温可增强卵黄蛋白降解酶的活性,继而促进相关代谢活动,加快胚胎发育速度^[11-12]。韩晓磊等^[6]的研究发现,30 ℃时克氏原螯虾胚胎(抱卵)发育仅需 15 d;在 Jin 等^[7]的温度梯度试验中,克氏原螯虾胚胎(抱卵)孵化用时随温度升高逐渐缩短,水温 25 ℃下仅需 21 d;而吕佳等^[4]的研究表明,在 12~39 ℃

条件下,孵化时间随温度升高“先减小后增加”,33 ℃时用时最短,为29 d。本研究中,在19~28 ℃温度范围内,孵化时间随温度的升高而缩短,水温19 ℃时的孵化时间最长,水温28 ℃时孵化时间最短。这与韩晓磊等^[6]和Jin等^[7]的研究结果较一致;但与吕佳等^[4]的研究结果相比,本研究中相同温度下的孵化速度较快。分析其原因可能与抱卵的方式有很大关系,即抱卵虾胚胎的孵化速度和孵化率远高于非抱卵胚胎^[13]。

不同虾类种群对温度的耐受也不同,当水温超过温度耐受范围时,胚胎发育异常甚至死亡^[14-15]。日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)胚胎在36 ℃以上温度条件下不能正常孵化^[16];脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)胚胎在温度超过30 ℃时不能正常发育^[8];红螯螯虾(*Cherax quadricarinatus*)受精卵在水温低于22 ℃或超过35 ℃时,均不能正常孵化^[17]。本研究中,在试验温度(19~28 ℃)范围内,克氏原螯虾胚胎均能正常孵化,孵化率随着温度的升高呈现先升高后降低的趋势,在水温22 ℃时达到最高,但在28 ℃时胚胎孵化率仅为40.53%,显著低于其他温度组。这可能是因为胚胎内某些卵黄降解酶的活性在高温时受到抑制,从而导致了胚胎出现畸形,甚至死亡^[18-19],也可能是由于高温使克氏原螯虾抱卵刚毛黏附性降低,卵散落于水体底部后因缺氧而死亡,具体原因仍需进一步深入研究。

3.2 温度对克氏原螯虾幼体发育的影响

温度对克氏原螯虾幼体的生长和存活有明显的影响^[5-6]。本试验在水温19~28 ℃条件下,幼体发育速度随温度升高而加快,这与李铭等^[5]在一定温度范围内高温可明显促进克氏原螯虾幼体发育的结论一致,也与研究脊尾白虾^[20]、中国对虾(*Penaeus chinensis*)^[21]以及凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)^[22]等的结果一致。但当环境温度超过了动物自身的调节能力时,会导致生长受限,死亡率升高^[23-24]。脊尾白虾在36 ℃高温时幼体无法正常变态为仔虾^[20];日本沼虾在31 ℃高温时幼体死亡率高达88%^[25];墨吉明对虾(*Fenneropenaeus merguiensis*)幼虾在温度低于14 ℃的水中,停止摄食,24 h后全部死亡^[26]。李铭等^[5]的研究中克氏原螯虾在31 ℃条件下,死亡率很高,3~4周后全部死亡。本研究中,在19~28 ℃温度范围内,克氏原螯虾幼体均可正常发育,成活率随温度升高“先上升后

下降”,水温22 ℃时成活率最高。与马盛群等^[25]、李铭等^[5]的研究结果相比,幼体成活率相对较高,分析其原因可能与虾自身的体质和母体“热史”有关。在本研究中,高温(28 ℃)条件下,幼体成活率显著降低,这可能是因为高温加快了新陈代谢速率,自身营养物质的积累难以满足代谢消耗,从而导致幼体无法完成生长蜕壳,最后死亡^[27]。

本试验中还发现,同一温度胚胎和幼体时期成活率明显不同,幼体对温度的耐受范围要高于胚胎。这可能与机体自身营养供给有很大关系,Ⅱ~Ⅲ期幼体可开口摄食水体中小型浮游生物,从而为高温条件下机体较快的新陈代谢提供能量,而胚胎时期的能量消耗只能靠自身卵黄物质提供。综合各项指标,我们建议克氏原螯虾人工繁育过程中胚胎和幼体发育的温度范围设为22~25 ℃。

参考文献 References

- [1] 张启发.以“双水双绿”重塑“鱼米之乡”[N].湖北日报,2018-06-13(15). ZHANG Q F. Remolding the land of fish and rice with “Shuangshui shuanglü”[N]. Hubei daily,2018-06-13(15)(in Chinese).
- [2] 全国水产技术推广总站,中国水产学会.2020中国小龙虾产业发展报告[J].中国水产,2020(7):8-17. National Aquatic Technology Promotion Station, Chinese Fisheries Society. China crayfish industry development report 2020[J]. Chinese aquatic products,2020(7):8-17 (in Chinese).
- [3] 董扬帆,李军涛,张秀霞,等.克氏原螯虾繁殖生物学与苗种培育技术研究进展[J].水产学杂志,2020,33(4):68-74. DONG Y F, LI J T, ZHANG X X, et al. A review: research advances on seedling breeding of red swamp crayfish *Procambarus clarkii* [J]. Chinese journal of fisheries,2020,33(4):68-74(in Chinese with English abstract).
- [4] 吕佳,宋胜磊,唐建清,等.克氏原螯虾受精卵发育的温度因子数学模型分析[J].南京大学学报,2004,40(2):226-231. LÜ J, SONG S L, TANG J Q, et al. Mathematical model analysis of temperature factors in the development of the fertilized eggs of *Procambarus clarkii*[J]. Journal of Nanjing University,2004,40(2):226-231 (in Chinese with English abstract).
- [5] 李铭,董卫军,邢迎春,等.温度对克氏原螯虾幼虾发育和存活的影响[J].水利渔业,2006,27(2):36-37. LI M, DONG W J, XING Y C, et al. Effects of temperature on the development and survival of juvenile *Procambarus clarkii*[J]. Water conservancy and fisheries,2006,27(2):36-37 (in Chinese).
- [6] 韩晓磊,李小蕊,程东成,等.温度对克氏原螯虾交配、抱卵、孵化和幼体发育的影响[J].湖北农业科学,2011,50(10):2078-2080. HAN X L, LI X R, CHENG D C, et al. Effect of temperature on mating,oogenesis,hatching and larvae development of

- red swamp crayfish (*Procambarus clarkia*) [J]. Hubei agricultural science, 2011, 50(10): 2078-2080 (in Chinese with English abstract).
- [7] JIN S Y, JACQUIN L, HUANG F, et al. Optimizing reproductive performance and embryonic development of red swamp crayfish *Procambarus clarkii* by manipulating water temperature [J]. Aquaculture, 2019, 510: 32-42.
- [8] 栗治国, 张成松, 张岩, 等. 温度对脊尾白虾胚胎及幼体发育的影响研究 [J]. 海洋科学, 2013, 37(10): 9-16. LI Z G, ZHANG C S, ZHANG Y, et al. Effects of temperature on embryonic and larval development of *Exopalaemon carinicauda* (Holthuis) [J]. Marine sciences, 2013, 37(10): 9-16 (in Chinese with English abstract).
- [9] 孙儒泳. 动物生态学原理 [M]. 3 版. 北京: 北京师范大学出版社, 2001. SUN R Y. Principles of animal ecology [M]. 3rd ed. Beijing: Beijing Normal University Press, 2001 (in Chinese).
- [10] 堵南山. 甲壳动物学 (下) [M]. 北京: 科学出版社, 1993. DU N S. Crustacean (II) [M]. Beijing: Science Press, 1993 (in Chinese).
- [11] 姚俊杰, 赵云龙. 罗氏沼虾胚胎发育期主要消化酶和同工酶特性 [J]. 水产科学, 2006, 25(12): 595-600. YAO J J, ZHAO Y L. Characteristics of several digestive enzymes and isozyme during embryonic development in prawn, *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Fisheries science, 2006, 25(12): 595-600 (in Chinese with English abstract).
- [12] 李青, 陈永祥. 温度对虾蟹生长发育影响的研究进展 [J]. 江苏农业科学, 2019, 47(10): 26-31. LI Q, CHEN Y X. Research progress on the effect of temperature on the growth and development of shrimp and crab [J]. Jiangsu agricultural science, 2019, 47(10): 26-31 (in Chinese).
- [13] 朱玉芳, 崔勇华, 戈志强, 等. 克氏原螯虾抱卵与非抱卵孵化比较研究 [J]. 水利渔业, 2002, 23(4): 16-17. ZHU Y F, CUI Y H, GE Z Q, et al. Comparative study on hatching of *Procambarus clarkii* with and without eggs [J]. Water conservancy fisheries, 2002, 23(4): 16-17 (in Chinese).
- [14] LAHNSTEINER F, KLETZL M, WEISMANN T. The effect of temperature on embryonic and yolk-sac larval development in the burbot *Lota lota* [J]. Journal of fish biology, 2012, 81(3): 977-986.
- [15] LUGOWSKA K, KONDERA E. Early development of vimba (*Vimba vimba*) at different temperatures and temperature-related anomalies [J]. Aquaculture research, 2018, 49(6): 2336-2344.
- [16] 邢克智, 刘茂春. 温度对青虾胚胎发育的影响 [J]. 河北大学学报 (自然科学版), 1996, 16(S1): 22-26. XING K Z, LIU M C. The Effect of temperature on embryonic development of *Macrobrachium nipponense* [J]. Journal of Hebei University (natural science edition), 1996, 16(S1): 22-26 (in Chinese with English abstract).
- [17] 赵云龙, 孟凡丽, 陈立桥, 等. 不同水温对红螯螯虾胚胎发育的影响 [J]. 湖泊科学, 2000, 12(1): 59-62. ZHAO Y L, MENG F L, CHEN L Q, et al. Effects of different gradient temperatures on embryonic development of the *Cherax quadricarinatus* (Crustacea, Decapoda) [J]. Journal of lake science, 2000, 12(1): 59-62 (in Chinese with English abstract).
- [18] ARITAKI M, SEIKAI T. Temperature effects on early development and occurrence of metamorphosis-related morphological abnormalities in hatchery-reared brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini* [J]. Aquaculture, 2004, 240 (1/2/3/4): 517-530.
- [19] WYBAN J, WALSH W A, GODIN D M. Temperature effects on growth, feeding rate and feed conversion of the Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) [J]. Aquaculture, 1995, 138 (1/2/3/4): 267-279.
- [20] 梁俊平, 李健, 李吉涛, 等. 不同温度对脊尾白虾胚胎发育与幼体变态存活的影响 [J]. 生态学报, 2013, 33(4): 1142-1152. LI J P, LI J, LI J T, et al. Effects of water temperature on the embryonic development, survival and development period of larvae of ridgetail white prawn (*Exopalaemon carinicauda*) reared in the laboratory [J]. Acta ecologica sinica, 2013, 33(4): 1141-1152 (in Chinese with English abstract).
- [21] 潘鲁青, 王克行. 温度对中国对虾幼体生长发育与消化酶活力的影响 [J]. 中国水产科学, 1997, 4(3): 18-23. PAN L Q, WANG K X. Effects of temperature on growth development and digestive enzyme activities of the larvae of *Penaeus chinensis* [J]. Journal of fishery sciences of China, 1997, 4(3): 18-23 (in Chinese with English abstract).
- [22] 赵玉超, 王仁杰, 沈敏, 等. 高盐和温度对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 受精卵孵化及幼体发育的影响 [J]. 海洋与湖沼, 2019, 50(2): 347-354. ZHAO Y C, WANG R J, SHEN M, et al. Effects of temperature and high salinity on eggs hatching, metamorphosis rate and salinity tolerance of larva in *Litopenaeus vannamei* [J]. Oceanologia et limnologia sinica, 2019, 50(2): 347-354 (in Chinese with English abstract).
- [23] ANGER K, DAWIRS R R. Influence of starvation on the larval development of *Hyas araneus* (Decapoda, Majidae) [J]. Helgoländer meeresuntersuchungen, 1981, 34(3): 287-311.
- [24] 朱小明, 李少菁. 孵育温度对虾蟹幼体质量影响的初步研究 [J]. 应用生态学报, 1998, 9(1): 71-74. ZHU X M, LI S J. Effect of brooding temperature on larval quality of shrimp and crab [J]. Chinese journal of applied ecology, 1998, 9(1): 71-74 (in Chinese with English abstract).
- [25] 马盛群, 李爱顺, 茅建强, 等. 温度对日本沼虾末期幼体变态发育的影响 [J]. 江苏农业科学, 2014, 42(8): 239-240. MA S Q, LI A S, MAO J Q, et al. Effect of temperature on metamorphosis and development of juveniles in late stage of *Macrobrachium nipponense* [J]. Jiangsu agricultural sciences, 2014, 42(8): 239-240 (in Chinese).
- [26] 杨世平, 孙成波, 吴颖豪, 等. 墨吉明对虾幼虾对盐度和温度的适应性研究 [J]. 大连海洋大学学报, 2015, 30(3): 261-265. YANG S P, SUN C B, WU Y H, et al. Tolerance of shrimp *Fenneropenaeus merguiensis* juveniles to salinity and tempera-

- ture[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2015, 30(3): 261-265 (in Chinese with English abstract).
- [27] COMAN G, CROCOS P J, PRESTON N P, et al. The effects of temperature on the growth, survival and biomass of different families of juvenile *Penaeus japonicus* Bate[J]. Aquaculture, 2002, 214 (1/2/3/4): 185-199.

Effects of temperature on embryonic and larval development of *Procambarus clarkii*

LIU Yongxin¹, ZHANG Dianfu¹, TAO Zhonghu², FU Feng³, GU Zemao¹

1. College of Fisheries, Huazhong Agricultural University/Shuangshui Shuanglü Research Institute, Huazhong Agricultural University/Hubei Engineering Research Center of Aquatic Animal Disease Prevention and Control/Engineering Research Center of Green Development of Bulk Aquatic Biology Industry in Yangtze River Economic Belt, Ministry of Education, Wuhan 430070, China;

2. Agricultural Development Center of Qianjiang City, Hubei Province, Qianjiang 433100, China;

3. Agriculture and Rural Affairs Bureau of Qianjiang City, Qianjiang 433100, China

Abstract To determine the optimal temperature of embryonic and larval development of *Procambarus clarkii*, we observed the embryonic and larval development process, and recorded the survival rate, development time, biological zero degree and effective accumulated temperature at four temperatures (19 °C, 22 °C, 25 °C and 28 °C). The results showed that the hatching time, hatching rate and larval development of *P. clarkii* were significantly affected by temperature ($P < 0.05$). The embryonic development was accelerated with the temperature increasing within the experimental temperature range (19–28 °C), and the development time at 19 °C was (622.67 ± 6.02) h post spawning, while it was only (349.67 ± 4.63) h at 28 °C. The embryonic hatching rate firstly increased and then decreased with the temperature increasing, with the highest hatching rate of $91.03\% \pm 2.97\%$ and lowest of $40.53\% \pm 4.97\%$ obtained at 22 °C and 28 °C, respectively. The larval development time decreased with the increase of temperature, and the development time at 19 °C was (304.00 ± 10.73) h, while it was only (194.00 ± 9.03) h at 28 °C. The larval survival rate firstly increased and then decreased with the increase of temperature, and the highest $(94.37\% \pm 1.60\%)$ and lowest $(82.67\% \pm 1.51\%)$ survival rate were obtained at 22 °C and 28 °C, respectively. The biological zero of embryonic and larval development calculated by Sanderson-Pearis formula were 7.32 °C and 3.29 °C. Further, a temperature-dependent developmental model for the *P. clarkii* embryos and larvae was built. According to the curve fitting equation, the optimal temperature of embryonic and larval development were 22.06 °C and 22.78 °C, respectively. Therefore, it is recommended that the optimal temperature range for the embryonic and larval development during artificial *P. clarkii* breeding process should be set at 22–25 °C.

Keywords *Procambarus clarkii*; embryonic development; larval development; hatching rate; survival rate; temperature

(责任编辑:边书京)