

DOI: 10.12264/JFSC2024-0164

克氏原螯虾低温休眠保活技术研究

阮记明¹, 钟智威¹, 黄建珍¹, 温娇萍², 王朝¹, 傅雪军³, 王润萍¹

1. 江西农业大学动物科学技术学院, 江西 南昌 330045;

2. 江西省萍乡市农业技术推广中心, 江西 萍乡 337000;

3. 江西省水生生物保护救助中心, 江西 南昌 330045

摘要: 本研究旨在探究低温休眠对克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)存活率、表观性状、免疫功能、抗氧化能力和肌肉品质的影响, 为克氏原螯虾反季节上市提供参考。选取体重(17.98±0.83) g、体长(6.55±0.07) cm的克氏原螯虾, 首先由 25 °C 以 5 °C/h 速率降温, 确定其临界休眠温度和致死温度。再分别设置 2 °C/h、3 °C/h、4 °C/h、5 °C/h 降温 and 升温速率, 根据其在不同降温速率、休眠温度和升温速率等条件下的存活率变化, 确定最适休眠条件。最后, 检测最适休眠条件下克氏原螯虾表观性状、血清免疫和抗氧化指标以及肌肉品质的变化情况。结果显示, 克氏原螯虾的临界休眠温度为 7 °C, 临界死亡温度为 0 °C; 不同的降温速率中, 以 2 °C/h 速率进行降温, 虾的存活率最高[(97.50±1.12)%]; 不同升温速率中, 以 2 °C/h 速率进行升温时虾的存活率最高[(98.33±1.05)%]; 不同的休眠温度组中, 休眠 60 d 后, 5 °C 下进行低温休眠的虾存活率最高[(60.50±2.02)%]; 故确定以 2 °C/h 降温、5 °C 休眠和 2 °C/h 升温为本研究克氏原螯虾最适休眠条件; 最适休眠条件下, 克氏原螯虾休眠 60 d 与 0 d 相比, 体重、体长、肥满度(CF)、肝胰腺重和肝胰腺指数(HSI)变化不显著($P>0.05$); 最适休眠条件下, 克氏原螯虾休眠 30 d 时, 血清 AKP 活性显著高于其余休眠时间点($P<0.05$); 而休眠 60 d 时, 血清中 AKP 活性显著低于其他休眠时间点($P<0.05$)。休眠 15 d、30 d、45 d、60 d 时, 血清中 ACP、SOD、MDA 含量变化不显著($P>0.05$); 最适休眠条件下, 克氏原螯虾休眠 60 d 与 0 d 相比, 其肌肉硬度和恢复性显著降低($P<0.05$), 内聚性显著升高($P<0.05$); 而其鲜味氨基酸中的丙氨酸、天冬氨酸、谷氨酸和甘氨酸变化不显著($P>0.05$)。综上, 2 °C/h 的降温速率、5 °C 休眠和 2 °C/h 的升温速率为本研究条件下克氏原螯虾的最适低温休眠保活条件; 以该条件休眠 60 d, 克氏原螯虾表观性状变化不显著; 其免疫和抗氧化调节功能随着休眠时间的延长减弱, 存活率降低。此外, 低温休眠会引起克氏原螯虾肌肉部分理化性质发生变化, 但风味成分未发生显著变化。

关键词: 克氏原螯虾; 低温休眠; 存活率; 免疫指标; 肌肉品质

中图分类号: S984

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2024)07-0810-10

克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)俗称小龙虾, 原产于北美洲, 1929 年由日本引入我国江苏省, 目前是我国养殖产量最多的经济淡水甲壳类动物^[1]。随着近年来小龙虾产量的迅速上升, 适宜的保活方法对其品质保证具有重要意义。水产动物常用保活方式主要分为麻醉保活和低温休眠保活^[2]。麻醉保活会使水产动物存在休药期, 如间氨基苯

甲酸乙酯甲磺酸盐(3-aminobenzoic acid ethyl ester methanesulfonate, MS-222)常被用于鱼虾类的麻醉保活, 但需经 21 天休药期方可进入市场销售^[3]。丁香酚也是一种高效且廉价的水产麻醉剂, 但在光照下会发生化学反应, 且其在鱼体内的代谢是否会产生有害物质尚不清楚^[4]。同时, 麻醉剂在实际使用过程中安全用量难以把握, 不同麻醉

收稿日期: 2024-05-27; 修订日期: 2024-06-18.

基金项目: 江西省重点研发计划项目(20192ACB60009); 江西省稻田综合种养产业技术体系赣西综合试验推广站项目(JXARS-12); 江西彭泽虾蟹科技小院项目.

作者简介: 阮记明, 副教授, 研究方向水产动物健康养殖. E-mail: rjm903@163.com

通信作者: 王润萍, 讲师, 研究方向为水产动物病害. E-mail: wrp201314@126.com

剂受温度和水产动物种类不同,有效用量不同,过高的浓度或者过长的麻醉时间均会造成水产动物死亡^[5]。相比而言,低温休眠保活则是一种低成本、无毒无害、绿色环保的休眠保活方式。水产动物在适宜的低温条件下会进入休眠或半休眠状态,此时水产动物的呼吸速率明显降低,活动力及对氧气的需求显著降低,从而增加休眠时间^[6-8]。鱼、虾、贝等存在一个固定的生态冰温区,采用适宜的降温方法到达生态冰温区内可以实现低温休眠^[9]。然而,不同的鱼种适宜的低温环境不同,过高或过低都会影响保活率。有研究表明,生态冰温、梯度降温、贮运环境、梯度升温都将影响低温休眠存活率^[10-11]。因此根据物种不同,需采用不同降温方法及不同休眠温度,才能达到良好的休眠保活效果。

克氏原螯虾在每年的5—7月集中上市,短时间大量上市会导致市场供大于求。然而,在克氏原螯虾上市淡季,尤其每年12月到翌年的2月,又有一定的市场需求。因此,利用克氏原螯虾属于变温动物,具有低温休眠的习性,采用低温保活方法进行反季节销售能极大地缓解上述两个行业难题。但是目前针对克氏原螯虾长时间低温休眠保活的研究相对欠缺。因此,本研究采用低温休眠的方法对克氏原螯虾进行保活,首先通过观察在低温环境不同行为特征确定其临界休眠温度和临界死亡温度;其次,根据不同降温速率、休眠温度和升温速率下的存活率,探索克氏原螯虾的最适休眠条件;最后,根据低温休眠后的表观性状、血清中酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)以及肌肉品质的变化情况,探究低温休眠在克氏原螯虾反季节上市的现实价值。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验动物由江西彭泽虾蟹科技小院示范基地(29°92'N, 116°65'E)提供。实验前将克氏原螯虾在(25.0±1.0)℃的循环水中暂养1周。随机挑选体

重(17.98±0.83)g、体长(6.55±0.07)cm、体质健壮、体表无伤的克氏原螯虾置于水位4cm的水族箱内进行实验。

1.2 实验方法

1.2.1 克氏原螯虾的临界温度 将60尾克氏原螯虾随机分为3个平行组,每个平行组20尾,初始温度为25℃,降温速率5℃/h。通过观察克氏原螯虾在不同温度下的生理、行为特征以判定临界休眠温度和临界死亡温度。以克氏原螯虾步足活动减缓,侧躺水底,反应迟钝或对外界刺激无反应,螯足抓力弱或无抓力为特征,出现以上特征时开始计时10min,转移到25℃水中后能存活的原所处温度作为其临界休眠温度^[12]。水温降至休眠温度后继续降温,以克氏原螯虾螯足无抓力、步足下垂和心跳停止时的温度作为其临界死亡温度^[13]。

1.2.2 克氏原螯虾的最适休眠条件 本研究共选用体重、生理状态相近的克氏原螯虾240尾,随机分为4组,20尾/组,每组3个平行。实验初始水温为25℃,4个组分别采用2℃/h、3℃/h、4℃/h、5℃/h速率降温至临界休眠温度,12h后观察克氏原螯虾的行为特征,统计克氏原螯虾存活数,计算其存活率(X_1):

$$X_1 = W_1 / 20 \times 100\%$$

式中, W_1 为克氏原螯虾降温处理后平均存活尾数。

本研究共选用体重、生理状态相近的克氏原螯虾2400尾,随机分为4个组,200尾/组,每组3个平行。初始水温为25℃,采用存活率最高的降温速率进行降温至休眠温度,4个组分别采用1℃、3℃、5℃、7℃的休眠温度进行休眠。休眠过程中,保持水温稳定。每天检查存活情况,及时清理粪便。每隔15d计算各组存活率(X_2):

$$X_2 = W_2 / 200 \times 100\%$$

式中, W_2 为克氏原螯虾休眠后平均存活尾数。

在克氏原螯虾休眠60d后,将存活率最高的休眠温度组的克氏原螯虾随机分为4组,每组3个平行。4个组分别以2℃/h、3℃/h、4℃/h、5℃/h升温到25℃,12h后观察克氏原螯虾的行为特征。统计克氏原螯虾存活数,计算其存活率。

1.2.3 样品采集 在休眠0d、15d、30d、45d、

60 d 四个休眠时间点采集克氏原螯虾血淋巴。在 1 °C、3 °C、5 °C、7 °C 的 4 个休眠温度组随机选取 10 尾克氏原螯虾, 分别从围心腔采集血淋巴, 离心(4 °C、8000 r/min、10 min)取上清液, 用于检测血清生理生化指标。在休眠 0 d 和 60 d, 随机选取最适休眠温度组中 10 尾克氏原螯虾, 采集肝胰腺和肌肉, 将肝胰腺称重, 肌肉于-80 °C 保存用于理化性质和鲜味氨基酸含量检测。

1.2.4 克氏原螯虾低温休眠保活实验及指标测定 表观性状测定: 分别测量和称量克氏原螯虾的体长、体重和肝胰腺重, 参照以下公式计算其肥满度和肝胰腺指数。

肥满度(condition factor, CF, g/cm³)=(体重/体长³)×100

肝胰腺指数(hepatosomatic index, HSI, %)=(肝胰腺质量/虾体重)×100

免疫和抗氧化指标测定: ACP 和 AKP 的活性用硝基酚磷酸钠法测定, SOD 活性用 Water-soluble tetrazolium salt-1 法测定, MDA 含量用硫代巴比妥酸法检测。试剂盒均购自南京建成生物工程研究所有限公司。

肌肉品质测定方法如下:

(1)肌肉系水力测定: 肌肉系水力的测定参考 Honikel 等^[14]运用的方法。称取克氏原螯虾肌肉样品, 用滤纸将肌肉包裹起来, 并将其放入 15 mL 离心管中, 1000 r/min, 室温, 离心 15 min 之后, 将肌肉样本从滤纸中全部取出来并对其进行称量, 计算系水力(%);

(2)蒸煮损失率测定^[15]: 将称量好的肌肉样品装入塑料袋中密封, 置于 75 °C 的水浴锅中 15 min, 待冷却到室温, 用滤纸吸干表面的水分后进行称重, 计算其蒸煮损失率(%);

(3)pH 测定^[16]: 将克氏原螯虾肌肉样品进行研磨, 称量肌肉和蒸馏水(1:10), 充分混合 30 min 后, 用 pH 检测滤液 pH;

(4)肌肉质构特性测定^[17]: 取克氏原螯虾腹部第三节肌肉, 剪切为 2 cm 长, 1 cm 厚的块状, 以质构剖面分析方法(TA.TX Plus 质构仪)测定肌肉的硬度、弹性、内聚性、黏附性、胶粘性和咀嚼性等指标;

(5)肌肉鲜味氨基酸含量测定^[18]: 称量 4 种氨基酸标准品之后, 制备成浓度为 5 mg/mL 的混标线性母液, 将母液与 L-Alanine-d4 和 Phenylalanine-d2 溶液混匀制成混合内标溶液(IS), 均保存于-20 °C 冰箱。将样本研磨后和质谱水混合制成稀释样本, 取稀释样本 50 μL, 加入 200 μL 含混合内标的沉淀剂(乙腈: 甲醇=1:1), 0 °C 静置 30 min, 12000 r/min、4 °C 离心 10 min, 取全部上清进行 LC-MS 分析。

1.3 数据处理

所有结果均采用平均值±标准误($\bar{x}\pm SE$)表示。采用 SPSS 26.0 进行单因素方差分析(one-way ANOVA), $P>0.05$ 表示差异不显著, $P<0.05$ 表示差异显著, $P<0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 克氏原螯虾临界温度和最佳休眠条件的探索

2.1.1 克氏原螯虾的临界温度 以 5 °C/h 的速率降温, 克氏原螯虾的行为特征从最开始的安静, 逐渐出现应激反应, 进而反应缓慢迟钝, 最后进入休眠状态。随着水温的持续降低, 克氏原螯虾对刺激无反应并逐渐开始死亡。水温在 20~25 °C 时, 虾无应激, 活动正常; 当水温降至 13 °C, 部分虾开始出现尾部抽搐、跳窜、浮出水面等应激反应; 水温降到 10 °C, 大部分虾保持不动, 对外界刺激反应迟钝; 当水温降到 7 °C, 全部虾进入休眠状态; 当水温降到 5 °C, 部分虾开始侧躺水底, 抓起有轻微反应; 当水温降到 3 °C, 全部虾对外界刺激无反应, 此时观察发现部分侧躺水中的虾心脏跳动缓慢; 在 0 °C 时, 克氏原螯虾侧躺水底, 步足僵直, 假死不动, 无应激反应; 继续降温, 克氏原螯虾心跳停止, 出现死亡(表 1)。因此, 将 7 °C 作为克氏原螯虾的临界休眠温度, 0 °C 作为克氏原螯虾低温休眠下的临界死亡温度。

2.1.2 降温、升温速率对克氏原螯虾存活率的影响 本研究条件下, 克氏原螯虾在 2 °C/h 的降温、升温速率下的存活率显著高于 5 °C/h 存活率(表 2)($P<0.05$); 降温速率 2 °C/h 时, 克氏原螯虾的存活率最高, 为(97.50±1.12)%; 升温速率 2 °C/h

表 1 克氏原螯虾在-1~25 °C 温度范围内的行为特征

Tab. 1 Behavioral characteristics of *Procambarus clarkii* at temperatures ranging from -1 °C to 25 °C

温度/°C temperature	行为特征 behavioral characteristics
13-25	刚开始正常游动, 随着温度降低出现尾部抽搐、水中挣扎、跳窜、浮出水面等应激反应
10-13	开始安静下来, 缓慢移动, 对外界刺激有反应, 螯足有抓力, 逐渐保持不动
7-10	基本静止在水中, 步足停止活动(偶尔轻微游动), 螯足抓力弱或无抓力, 对外界刺激反应缓慢
5-7	基本静止在水中, 步足停止活动(偶尔微弱活动), 螯足无抓力, 对外界刺激反应缓慢
3-5	步足停止活动(偶尔轻微游动), 螯足无抓力, 对外界刺激反应迟缓、微弱
1-3	步足停止活动, 螯足无抓力, 对外界刺激反应微弱或无反应, 部分侧躺水中, 心脏跳动缓慢
-1-1	大部分侧躺水中, 步足僵直, 螯足无抓力, 对外界刺激无反应, 心脏停止跳动

表 2 降温、升温速率对克氏原螯虾存活率的影响

Tab. 2 The effects of cooling rate and heating rate on the survival rate of *Procambarus clarkii*

$n=3; \bar{x} \pm SE; \%$

处理 treatment	温度变化速率/(°C/h) rate of temperature variation			
	2	3	4	5
降温 cooling	97.50±1.12 ^b	94.17±2.01 ^{ab}	93.33±1.67 ^{ab}	86.67±2.11 ^a
升温 heating	98.33±1.05 ^b	93.33±2.79 ^{ab}	89.17±2.71 ^{ab}	88.33±1.67 ^a

注: 同行小写字母不同表示差异显著($P<0.05$).

Note: The different lowercase letters in the same line indicates significant difference ($P<0.05$).

时, 克氏原螯虾的存活率最高, 为(98.33±1.05) %。因此, 选择 2 °C/h 为最佳休眠保活的降温、升温速率。

2.1.3 不同休眠温度对克氏原螯虾存活率的影响

在 15 d、30 d、45 d、60 d 四个休眠时间点分别计算不同休眠温度下克氏原螯虾的存活率。克氏原螯虾在休眠温度 5 °C 和 7 °C 时的存活率高于休眠温度为 1 °C 和 3 °C; 休眠 15 d, 休眠温度 7 °C 时虾的存活率显著高于 1 °C ($P<0.05$); 休眠 30 d, 休眠温度为 7 °C 时虾的存活率显著高于 1 °C 和 3 °C ($P<0.05$); 休眠 45 d 和 60 d, 休眠温度为 5 °C 和 7 °C 虾的存活率显著高于休眠温度 1 °C 和 3 °C ($P<0.05$), 并且在休眠 60 d 后, 休眠温度 5 °C 时的虾存活率最高, 为(60.50±2.02)% (图 1)。因此, 选择 5 °C 作为保活的最佳休眠温度。

2.2 最适休眠条件对克氏原螯虾表观性状的影响

在 2 °C/h 的降温速率、5 °C 休眠和 2 °C/h 的升温速率条件下, 克氏原螯虾休眠 60 d, 其表观性状指标的影响见表 3。克氏原螯虾体重、体长、肥满度和肝胰腺重均呈现不同程度降低, 肝胰腺指数略有上升, 但各指标变化均不显著($P>0.05$)。

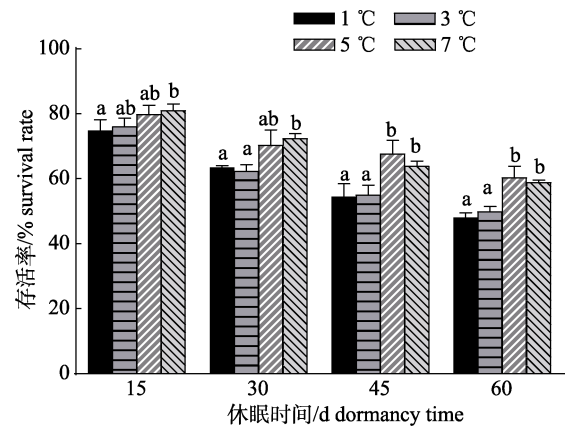


图 1 休眠温度对克氏原螯虾存活率的影响
不同的小写字母表示同一时间不同温度间差异显著($P<0.05$).

Fig. 1 The effects of dormancy temperature on survival rate of *Procambarus clarkii*

Different lowercase letters indicate significant difference among different temperatures at the same time ($P<0.05$).

表 3 最适休眠条件对克氏原螯虾表观性状的影响

Tab. 3 The effects of optimum dormancy conditions on phenotypic characteristics of *Procambarus clarkii*

$n=10; \bar{x} \pm SE$

表观性状 phenotypic characteristic	休眠时长/d dormancy period	
	0	60
体重/g weight	17.98±1.02	16.87±1.86
体长/cm length	6.55±0.19	6.52±0.31
肥满度/(g/cm ³) CF	6.41±0.45	6.11±0.64
肝胰腺重/g hepatopancreas weight	0.96±0.35	0.88±0.19
肝胰腺指数/% HIS	5.21±1.10	5.36±1.99

2.3 不同休眠时间对克氏原螯虾血清生化指标的影响

由图 2 可知, 在 2 °C/h 的降温速率、5 °C 休眠和 2 °C/h 的升温速率条件下, 克氏原螯虾在休眠 15 d、30 d、45 d、60 d 四个休眠时间点, 血清

中 ACP、AKP、SOD 活性呈现先升高后降低的趋势, 而 MDA 含量呈现先降低后升高的趋势; ACP、SOD 活性和 MDA 含量均无显著变化($P>$

0.05); 休眠 30 d 时, AKP 活性显著高于其他休眠时间点($P<0.05$); 休眠 60 d 时, AKP 活性显著低于其他时间点($P<0.05$)。

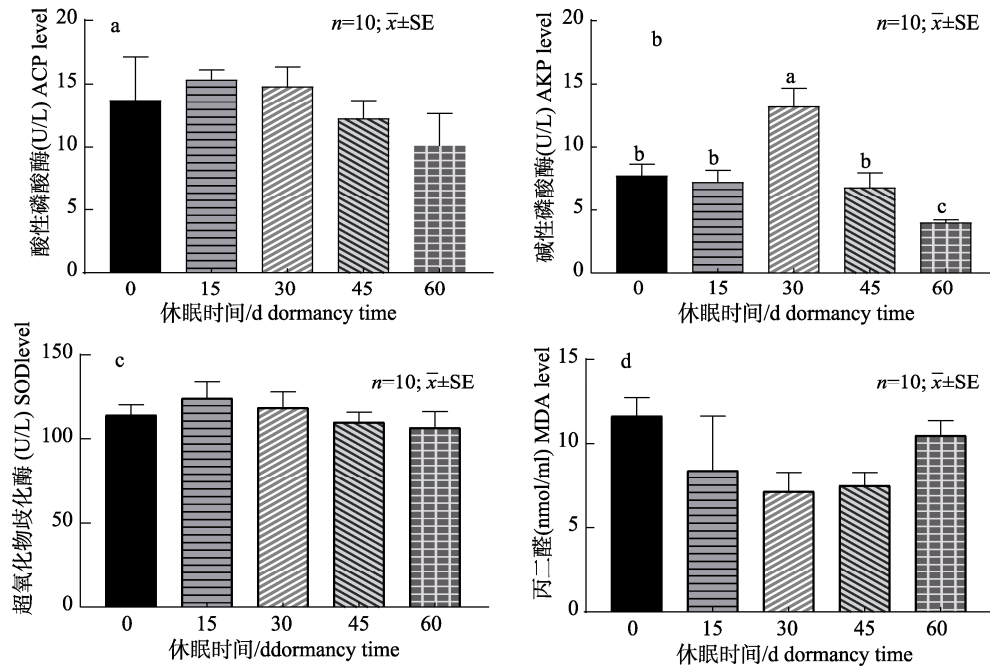


图 2 最适休眠条件不同休眠时间下克氏原螯虾血清生理生化指标变化情况

a. 酸性磷酸酶; b. 碱性磷酸酶; c. 超氧化物歧化酶; d. 丙二醛. 不同小写字母不同表示差异显著($P<0.05$).

Fig. 2 Changes of serum physiological and biochemical indexes of *Procambarus clarkii* under optimal dormancy conditions for different dormancy times

a. ACP, b. AKP, c. SOD, d. MDA. Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

2.4 最适休眠条件对克氏原螯虾肌肉品质的影响

在 2 °C/h 的降温速率、5 °C 休眠和 2 °C/h 的升温速率条件下, 克氏原螯虾休眠 60 d。克氏原螯虾肌肉系水力、pH、黏附性、弹性、胶粘性、咀嚼度有所下降, 蒸煮损失率有所上升, 但与休眠 0 d 相比均无显著性差异($P>0.05$)。与 0 d 相比, 克氏原螯虾的肌肉硬度和恢复性显著降低($P<0.05$), 内聚性显著升高($P<0.05$)(表 4); 肌肉中的丙氨酸含量有所增加, 天冬氨酸、谷氨酸和甘氨酸含量有所减少, 但均无显著性差异($P>0.05$)(表 5)。

3 讨论

3.1 最适休眠条件对克氏原螯虾存活率的影响

对虾属于变温动物, 其体温会随着环境温度的变化而变化, 必须依靠行为变化对其体温进行

表 4 最适休眠条件对克氏原螯虾肌肉理化性质的影响

Tab. 4 The effects of optimal dormancy conditions on muscle physicochemical properties of *Procambarus clarkii*
 $n=10; \bar{x}\pm SE$

理化性质 physicochemical property	休眠时长/d dormancy period	
	0	60
系水力/% holding water	86.48±1.94	81.86±2.33
蒸煮损失率/% cooking loss rate	19.71±0.56	22.77±2.61
pH	7.16±0.03	7.08±0.02
硬度/g hardness	7.69±0.33	4.96±0.38*
黏附性/N adhesiveness	0.07±0.00	0.06±0.00
弹性/mm springiness	0.89±0.03	0.87±0.01
内聚性/g cohesiveness	0.44±0.02	0.54±0.02*
胶粘性/mJ gumminess	3.35±0.25	2.80±0.21
咀嚼度/mJ chewiness	2.35±0.22	2.03±0.31
恢复性/% resilience	34.00±1.00	21.00±2.00*

注: *表示不同休眠时长间差异显著($P<0.05$).

Note: * indicates significant difference between different dormancy periods ($P<0.05$).

表 5 最适休眠条件对克氏原螯虾肌肉鲜味氨基酸含量的影响

Tab. 5 The effects of optimal dormancy conditions on amino acids content in muscle of *Procambarus clarkii*n=10; $\bar{x}\pm\text{SE}$; mg/g

鲜味氨基酸 umami amino acid	休眠时长/d dormancy period	
	0 d	60 d
丙氨酸 alanine	1.84±0.08	2.10±0.13
天冬氨酸 aspartate	0.16±0.01	0.15±0.03
谷氨酸 glutamate	1.34±0.13	1.24±0.12
甘氨酸 glycine	0.47±0.04	0.43±0.08

调节。临界温度指生物进行正常生命活动所需的环境温度的上限或下限。不同地域、不同养殖种类其临界休眠、临界死亡温度不尽相同。本研究首先通过梯度降温,发现 7 °C 时克氏原螯虾进入休眠状态,温度降低至 0 °C 时,开始出现大量死亡。因此判断临界休眠温度为 7 °C,与已报道虾、蟹类休眠温度范围基本一致。管维良^[19]研究表明南美白对虾在 6 °C、8 °C 能够进入休眠状态,高于 10 °C 则无法进入休眠。张艳春等^[20]发现水温低于 9 °C,红螯虾出现明显应激反应,水温为 6 °C 出现大量死亡,推断红螯螯虾的临界死亡温度是 6 °C。因为克氏原螯虾春夏季节上市,养殖气温较高。因此,如直接对捕获的虾进行低温保存,温度骤降容易引起强烈刺激,存活率受到影响。在本研究中,将捕获后的虾暂养,暂养后通过不同降温、升温速率进行休眠和复苏,使其逐渐适应温度变化,逐渐提高虾的温度耐受能力。本研究发现,克氏原螯虾有水保活的最佳方法是以 2 °C/h 速率降温,5 °C 有水条件下保活,再以 2 °C/h 速率升温复苏,其保活时间最久且保活率最高。在此休眠条件下休眠 15 d 存活率 79.83%,休眠 30 d 存活率 70.33%,休眠 60 d 存活率仍有 60.5%。与已有相关虾蟹类报道相比,本研究采用的低温保活策略在时间上明显延长,且存活率更高。杨世平等^[21]将墨吉明对虾幼虾从 29 °C 海水中转入 24 °C、34 °C 的水体 96 h 后,存活率 80 % 以上;转入 19 °C 的水体中,96 h 存活率仅为 50 %。徐德峰等^[22]通过不同降温速率,最终维持在 5 °C 采用无水冰温条件下保藏凡纳滨对虾,24 h 内存活率 98.5 % 以上。同样地,有研究表明将罗氏沼虾放置在冷冻锯木屑中保活,以(2.52± 0.18) °C/h 速率

降温,(15±1) °C 条件下保存,最长 16.47 h 可以维持存活率 95%^[23]。这些研究均只能满足虾的短时间保存需求,未能给出更长时间的活体保藏方法及保活率等基础数据。本研究结果为克氏原螯虾的长时间活体保存提供了重要理论基础和数据支持。

3.2 最适休眠条件对克氏原螯虾表观性状的影响

低温休眠时,鱼类的呼吸速率显著降低,新陈代谢几乎降至零,基本无任何活动行为,仅受到强烈刺激才可能产生缓慢反应,但机体仍然需要消耗营养物质来维持基本的生命活动^[24]。低温胁迫对水产动物的直观影响表现为体重、肝体指数和肥满度等形体指标不同程度的变化^[25]。因此,低温休眠保存还要对克氏原螯虾的表观性状进行评估,以保证虾的品相。本研究发现,以 2 °C/h 速率降温,5 °C 有水条件下保活 60 d,逐渐升温至 5 °C 复苏后其体重、体长、肥满度、肝胰腺重量、肝胰腺指数等均未发生显著性变化。其中体重、肥满度、肝胰腺重量略有下降,可能因肝胰腺和肌肉是克氏原螯虾重要的营养储存场所,当低温休眠时机体仍然会消耗其部分营养物质维持极低的代谢。这与大部分低温保存水产品的报道相同。吴东蕾^[26]探究低温胁迫对红螯光壳螯虾(*Cherax quadricarinatus*)影响时发现,9 °C 组的红螯光壳螯虾肝胰腺比显著小于 25 °C。周康奇等^[27]通过将中国圆田螺(*Cipangopaludina chinensis*)于 4 °C 储存不同时间发现,低温 56 d 和对照组 0 d 相比体重下降了 7.6%。大量研究表明,当保活温度不低于临界死亡温度时,温度越低,水产品保活时间越长且复苏后的营养成分保留越好^[21,28-29]。本研究中,保活温度 5 °C 低于目前虾蟹类保活报道的保活温度,同时结果也表明,低温保活 60 d 时克氏原螯虾的肥满度、体重、体长等表观性状与 0 d 相比没有显著变化,营养物质消耗微乎其微。可见,本研究的克氏原螯虾低温保活方法具有实际应用价值。

3.3 最适休眠条件对克氏原螯虾血清生理生化指标的影响

水产动物在受到温度变化、饥饿等胁迫后,机体会产生应激反应^[30]。ACP 是一种多功能的磷

酸单酯水解酶,对维持动物的生理机能和免疫至关重要的作用,AKP 是一种重要的代谢调控酶,能增强甲壳动物的抗病性^[31-32]。低温、缺水和饥饿等应激源可能导致氧化应激并在鱼和虾中诱导抗氧化反应,从而影响 SOD 水平^[33]。本研究中,克氏原螯虾在低温休眠过程中,ACP、SOD 虽然呈现先增加后降低的趋势,但变化不显著。而 AKP 则在 30 d 呈现显著性升高后,60 d 显著性下降。这与目前大量相关报道趋势类似,李豫等^[34]研究发现低温胁迫 7 d 后,军曹鱼(*Rachycentron canadum*)幼鱼血清中 AKP 含量显著上升。同样,付东勇等^[35]研究表明,暗纹东方鲀(*Takifugu fasciatus*)低温应激早期,SOD 活性会显著性升高,而在长时间低温应激后会有下降趋势。罗胜玉等^[36]发现,将黄姑鱼(*Nibea albiflora*)进行低温胁迫后,其肝脏、肌肉和鳃组织的 SOD 也呈先升高再降低的趋势。李志强^[37]对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)进行不同时间低温处理后,肝胰腺中 ACP、AKP、SOD 呈现先升高后降低趋势。究其原因可能是低温休眠初期,机体受到低温和饥饿胁迫造成克氏原螯虾免疫应激,但长时间延长机体适应低温环境,应激逐渐减少,血液中相关免疫酶活指标回落。MDA 是脂质过氧化产物,它在一定程度上可以反映细胞的氧化损伤程度^[38]。本研究中,MDA 含量呈现先降低后升高的趋势,但变化不显著,这与相关报道存在一定差异。杨丰等^[12]研究表明,罗氏沼虾在 20 °C 有水保活 24 h 内,血液中 MDA 含量先升后降。肝胰腺作为虾体抗氧化反应的主要器官,其组织内 MDA 含量与肝实质细胞凋亡数量显著性正相关,可间接测定肝脏系统受损程度。本研究中,MDA 含量在低温保活过程呈先降低后增加,说明在保活前期,5 °C 低温对虾体肝脏的氧化代谢有一定抑制作用,MDA 含量下降,SOD 升高快速清除过氧化物,肝脏受到保护。而随着保活时间延长,虾体无氧代谢增强,导致肝细胞受损,SOD 活性下降,而 MDA 含量增加,而此时虾的存活率也明显下降。

3.4 最适休眠条件对克氏原螯虾肌肉品质的影响

硬度、弹性、内聚力、咀嚼性、恢复性等都是反映肌肉理化性质的指标^[39]。蒸煮损失率与系

水力用来指示克氏原螯虾的肌肉蛋白结构和肌肉品质是否发生了变化^[40]。谷氨酸、天冬氨酸、丙氨酸和甘氨酸等鲜味氨基酸含量会影响肌肉的风味^[41]。在本研究中,克氏原螯虾在最适休眠条件下休眠 60 d,虽然克氏原螯虾肌肉的硬度和恢复性显著下降,但内聚性显著升高。可能是由于保活初期,温度降低对克氏原螯虾造成刺激。克氏原螯虾为了抵抗不良影响,肌肉中的糖原被分解代谢成水和二氧化碳,肌肉中的水分增加,肌肉纤维的紧密程度发生变化,但对虾肉品质影响有限。虾体肌肉的系水力、pH、黏附性、弹性、胶粘性、咀嚼度和蒸煮损失等理化性质及鲜味氨基酸含量均没有显著变化。大量研究表明,低温保活能够有效保存肌肉营养物质,风味物质等。徐德峰等^[22]研究表明,在低温无水保活的条件下,凡纳滨对虾的食用品质并没有降低。罗丽俐等^[42]通过对太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)在生态冰温(0 °C)条件下保活,可以有效减缓其品质变劣速率。高加龙等^[43]对香港牡蛎(*Magallana hongkongensis*)在 4 °C、10 °C 和 15 °C 条件下保活不同时间后发现,4 °C 保活时,其营养物质损失相对较低,更利于储存和运输。在本研究中,克氏原螯虾在最适休眠条件下休眠 60 d,虾肌肉理化性质仅肌肉硬度、恢复性和内聚性 3 个指标发生显著性变化,其他指标均未发生显著变化,说明该低温休眠环境对克氏原螯虾肌肉品质影响有限,保证了低温保存过程虾肉自身的品质。

4 结论

综上所述,基于低温休眠原理,本研究以 2 °C/h 的降温速率、5 °C 休眠保活及 2 °C/h 的升温速率复苏的条件为克氏原螯虾的最适低温休眠保活条件。在该条件下休眠 60 d,克氏原螯虾表观性状变化不显著;随着休眠时间的延长,存活率不断降低,至 60 d 存活率仍有(60.50±2.02)%,克氏原螯虾免疫和抗氧化调节功能减弱;此外,虾体肌肉硬度、恢复性和内聚性 3 项理化性质发生显著变化,其他理化性质及风味氨基酸没有发生显著变化。本研究通过分析降温速率、保藏温度、升温速率等过程对克氏原螯虾保活效果的影

响,为克氏原螯虾长时间低温有水保活提供了理论基础和技术支持。

参考文献:

- [1] Yu X J, Hao X J, Yang L K, et al. China *Procambarus clarkii* industry development report (2023)[J]. China Fisheries, 2023(7): 26-31. [于秀娟, 郝向举, 杨霖坤, 等. 中国小龙虾产业发展报告(2023)[J]. 中国水产, 2023(7): 26-31.]
- [2] Pramod P K, Ramachandran A, Sajeevan T P, et al. Comparative efficacy of MS-222 and benzocaine as anaesthetics under simulated transport conditions of a tropical ornamental fish *Puntius filamentosus* (Valenciennes)[J]. Aquaculture Research, 2010, 41(2): 309-314.
- [3] Kiessling A, Johansson D, Zahl I H, et al. Pharmacokinetics, plasma cortisol and effectiveness of benzocaine, MS-222 and isoeugenol measured in individual dorsal aorta-cannulated Atlantic salmon (*Salmo salar*) following bath administration[J]. Aquaculture, 2009, 286(3-4): 301-308.
- [4] Fernandes I M, Bastos Y F, Barreto D S, et al. The efficacy of clove oil as an anaesthetic and in euthanasia procedure for small-sized tropical fishes[J]. Brazilian Journal of Biology, 2017, 77(3): 444-450.
- [5] Xie J, Cao J. Research progress on application of fishing anesthetic in fish anesthesia keep-alive transportation[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2021, 30(1): 189-196. [谢晶, 曹杰. 渔用麻醉剂在鱼类麻醉保活运输中应用的研究进展[J]. 上海海洋大学学报, 2021, 30(1): 189-196.]
- [6] Nie X B, Zhang Y, Zhang C F, et al. Research advances on alive transport of low temperature of aquatic product[J]. Food Research and Development, 2012, 33(12): 218-223. [聂小宝, 章艳, 张长峰, 等. 水产品低温保活运输研究进展[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(12): 218-223.]
- [7] Qin X. Study on the low temperature dormancy and survival transportation technology of pengze crucian carp (*Carassius auratus* var. Pengze)[D]. Nanchang: Nanchang University, 2018. [秦旭. 彭泽鲫的低温休眠保活运输技术研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2018.]
- [8] Fan X P, Qin X M, Zhang C H, et al. Metabolic and anti-oxidative stress responses to low temperatures during the waterless preservation of the hybrid grouper (*Epinephelus fuscogutatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂)[J]. Aquaculture, 2019, 508: 10-18.
- [9] Zhu Q F. Study on low temperature water conservation and transportation technology of ♀ *Epinephelus fuscogutatus* × ♂ *Epinephelus lanceolatus*[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2018. [朱乾峰. 珍珠龙胆石斑鱼低温保活运输技术研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2018.]
- [10] Zhang Y H. Study on the technique of ecological ice temperature and waterless transportation of *Lateolabrax maculatus*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2019. [张玉晗. 花鲈生态冰温无水活运技术的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2019.]
- [11] Ma S T, Dong S Y, Chen M, et al. Effects of temperature on the quality of *Procambarus clarkii* during waterless preservation[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(9): 371-379. [马舒恬, 董诗瑜, 陈梅, 等. 无水贮藏温度对克氏原螯虾保活期品质的影响[J]. 食品工业科技, 2023, 44(9): 371-379.]
- [12] Yang F, Wu H, Wang Y X, et al. Test on keeping *Macrobrachium rosenbergii* alive under water at low temperature[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2020, 46(5): 601-607. [杨丰, 吴涵, 王逸鑫, 等. 罗氏沼虾低温有水保活试验[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2020, 46(5): 601-607.]
- [13] Xiao T, Wang H L, Wang X C. Progress on keep-alive transportation of shrimp and crab[J]. Food and Fermentation Industry, 2022, 48(16): 326-333. [肖童, 王红丽, 王锡昌. 虾蟹类水产品保活运输的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(16): 326-333.]
- [14] Honikel K O. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat[J]. Meat Science, 1998, 49(4): 447-457.
- [15] Rodríguez A, Maier L, Paseiro-Losada P, et al. Changes in sensory and physical parameters in chill-stored farmed coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*)[J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2016, 25(5): 633-643.
- [16] Fan W J, Chi Y L, Zhang S. The use of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) during storage in ice[J]. Food Chemistry, 2008, 108(1): 148-153.
- [17] Yao H X, Chen X R, Yuan H W, et al. Effects of fermented feed on growth performance, muscle quality, antioxidant capacity and intestinal microflora in *Procazium clarkii*[J]. Journal of Fisheries of China, 2023, 47(12): 123-136. [姚海行, 陈效儒, 袁汉文, 等. 发酵饲料对克氏原螯虾生长性能、肌肉品质、抗氧化能力和肠道微生物群落的影响[J]. 水产学报, 2023, 47(12): 123-136.]
- [18] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). CLSI Document C62-A: Liquid chromatography-mass spectrometry methods, approved guideline[S]. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
- [19] Guan W L. The development of water-free transportation for live *Litopenaeus vannamei* and the biochemical and muscular stress responses[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2020. [管维良. 南美白对虾无水保活及其生化和肉质的应激响应[D]. 杭州: 浙江大学, 2020.]
- [20] Zhang Y C, Ye C J, Liu J T, et al. Stress behavior and anti-low temperature measures of red claw crayfish *Cherax quadricarinatus* exposed to low temperature stress[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2023, 36(2): 54-59. [张艳春, 叶传剑, 刘炬涛, 等. 红螯螯虾低温胁迫下应激行为及抗低温措施研究[J]. 水产学杂志, 2023, 36(2): 54-59.]
- [21] Yang S P, Sun C B, Wu Y H, et al. Tolerance of shrimp *Fenneropenaeus merguensis* juveniles to salinity and temperature[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2015, 30(3): 261-265. [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.]
- [22] Xu D F, Wang Y L, Sun L J, et al. Effect of temperature-

- descending procedures and storing parameters on the preservation time of Pacific white shrimp under waterless environment[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2019, 39(6): 101-107. [徐德峰, 王雅玲, 孙力军, 等. 降温及生态冰温条件对凡纳滨对虾无水存活时间的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2019, 39(6): 101-107.]
- [23] Salin K R. Live transportation of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) in chilled sawdust[J]. Aquaculture Research, 2005, 36(3): 300-310.
- [24] Matsukura K, Tsumuki H, Izumi Y, et al. Changes in chemical components in the freshwater apple snail, *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae), in relation to the development of its cold hardiness[J]. Cryobiology, 2008, 56(2): 131-137.
- [25] Pastoureaud A. Influence of starvation at low temperatures on utilization of energy reserves, appetite recovery and growth character in sea bass, *Dicentrarchus labrax*[J]. Aquaculture, 1991, 99(1-2): 167-178.
- [26] Wu D L. Effects of low temperature stress and lipid nutrition on growth and physiology of *Cherax quadricarinatus*[D]. Shanghai: East China Normal University, 2020. [吴东蕾. 低温胁迫和脂质营养对红螯光壳螯虾生长及生理的影响[D]. 上海: 华东师范大学, 2020.]
- [27] Zhou K Q, Wei Z N, Li Z, et al. Effects of different times of low temperature anhydrous preservation on survival, nutritional composition, enzyme activities and antioxidant indexes of *Cipangopaludina chinensis*[J]. Journal of Fisheries of China, 2024, 48(6): 069816. [周康奇, 韦孜娜, 李哲, 等. 不同低温时间无水保活对中国圆田螺存活、营养组成、消化酶活性及抗氧化指标的影响[J]. 水产学报, 2024, 48(6): 069816.]
- [28] Wang X Y, Zhou R. Study on the effects of survive rate of white shrimp[J]. Food Research and Development, 2008, 29(11): 135-138. [王向阳, 周蓉. 影响白虾成活因素的研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(11): 135-138.]
- [29] Cai X F, Zhang X L, Zhou J P, et al. Preliminary study on ecological ice-temperature keep-alive technology of *Larimichthys crocea*[J]. Fishery Modernization, 2019, 46(4): 69-72, 80. [蔡晓芳, 张晓林, 周建频, 等. 大黄鱼生态冰温保活技术的初步研究[J]. 渔业现代化, 2019, 46(4): 69-72, 80.]
- [30] Cai L, Johnson D, Fang M, et al. Effects of feeding, digestion and fasting on the respiration and swimming capability of juvenile sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*, Linnaeus 1758)[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2017, 43(1): 279-286.
- [31] Zhang H J, LI Z J, Zhang J S, et al. Changes in non-specific immune parameters and water quality in Pacific white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* culture ponds[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2011, 26(4): 356-361. [张华军, 李卓佳, 张家松, 等. 凡纳滨对虾免疫指标变化与其养殖环境理化因子的关系[J]. 大连海洋大学学报, 2011, 26(4): 356-361.]
- [32] Li T Y, Li E C, Suo Y T, et al. Energy metabolism and metabolomics response of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* to sulfide toxicity[J]. Aquatic Toxicology, 2017, 183: 28-37.
- [33] Vinagre C, Madeira D, Narciso L, et al. Effect of temperature on oxidative stress in fish: Lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juvenile seabass, *Dicentrarchus labrax*[J]. Ecological Indicators, 2012, 23: 274-279.
- [34] Li Y, Huang J S, Chen Y M, et al. Effects of low-temperature stress on serum biochemical, antioxidant enzymes activities and apoptosis-related gene expression in liver of juvenile Cobia (*Rachycentron canadum*)[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2022, 42(5): 18-26. [李豫, 黄建盛, 陈有铭, 等. 低温胁迫对军曹鱼幼鱼血清生化指标、肝脏抗氧化酶活性及凋亡相关基因表达量的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2022, 42(5): 18-26.]
- [35] Fu D Y, Zhang Y R, Chu P, et al. Effects of low temperature stress on the oxidative stress, apoptosis and intestinal microbial composition in intestine of *Takifugu fasciatus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2024, 48(1): 019604. [付东勇, 张艺然, 褚鹏, 等. 低温胁迫对暗纹东方鲀肠道氧化应激、细胞凋亡及肠道微生物组成的影响[J]. 水产学报, 2024, 48(1): 019604.]
- [36] Luo S Y, Xu D D, Lou B, et al. Effects of low temperature stress on activities of antioxidant enzymes, Na⁺-K⁺-ATP enzyme and Hsp70 content of *Nibea albiflora*[J]. Marine Science Bulletin, 2017, 36(2): 189-194. [罗胜玉, 徐冬冬, 楼宝, 等. 低温胁迫对黄姑鱼(*Nibea albiflora*)抗氧化酶、Na⁺-K⁺-ATP 酶及 Hsp70 蛋白含量的影响[J]. 海洋通报, 2017, 36(2): 189-194.]
- [37] Li Z Q. Effect of temperature change on physiological function of *Eriocheir sinensis*[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2023. [李志强. 温度变化对中华绒螯蟹生理功能的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2023.]
- [38] Zhang L, Zhao Z G, Fan Q X. Effects of ammonia on growth, digestion and antioxidant capacity in juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* (Richardson, 1846)[J]. Journal of Applied Ichthyology, 2016, 32(6): 1205-1212.
- [39] Mao D D, Zhang K, Ou H X, et al. Comparative analysis on flesh quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fed with two kinds of feeds[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2018, 30(6): 2226-2234. [毛东东, 张凯, 欧虹霞, 等. 2 种饲料投喂下草鱼肌肉品质的比较分析[J]. 动物营养学报, 2018, 30(6): 2226-2234.]
- [40] Liu J, Arner A, Puolanne E, et al. On the water-holding of myofibrils: Effect of sarcoplasmic protein denaturation[J]. Meat Science, 2016, 119: 32-40.
- [41] Jiang W D, Wu P, Tang R J, et al. Nutritive values, flavor amino acids, healthcare fatty acids and flesh quality improved by manganese referring to up-regulating the antioxidant capacity and signaling molecules TOR and Nrf2 in the muscle of fish[J]. Food Research International, 2016, 89: 670-678.
- [42] Luo L L, Lin H Z, Liang Z Y, et al. Effect of cold dormancy combined with film packaging on quality and metabolism of *Crassostrea gigas* during ecological ice temperature keep alive[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023,

44(3): 372-380. [罗丽俐, 林恒宗, 梁志源, 等. 冷休眠结合薄膜包裹对太平洋牡蛎生态冰温保活期品质及代谢的影响[J]. 食品工业科技, 2023, 44(3): 372-380.]

[43] Gao J L, Zhang C H, Qin X M, et al. Effects of different temperatures waterless keep alive on total number of bacteria

and coliform group, and basic nutritional compositions in *Crassostrea hongkongensis*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2020, 40(5): 90-96. [高加龙, 章超桦, 秦小明, 等. 不同温度无水保活对香港牡蛎微生物和基本营养成分的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2020, 40(5): 90-96.]

Study of low-temperature dormancy preservation technology on *Procambarus clarkii*

RUAN Jiming¹, ZHONG Zhiwei¹, HUANG Jianzhen¹, WEN Jiaoping², WANG Zhao¹, FU Xuejun³, WANG Runping¹

1. College of Animal Science and Technology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China;

2. Pingxiang Agricultural Technology Extension Center of Jiangxi Province, Pingxiang 337000, China;

3. Aquatic Conservation and Rescue Center of Jiangxi Province, Nanchang 330096, China

Abstract: In this study, we aimed to explore the effects of low-temperature dormancy on survival rate, apparent traits, immune function, antioxidant capacity, and muscle quality of *Procambarus clarkii*, providing a reference for off-season listing of *P. clarkii*. Experimental animals included *P. clarkii* with a body weight of (17.98±0.83) g and a body length of (6.55±0.07) cm. Initially, *P. clarkii* were cooled from 25 °C at a rate of 5 °C/h to determine the critical dormancy and death temperatures. Subsequently, cooling and heating rates were set at 2 °C/h, 3 °C/h, 4 °C/h, and 5 °C/h, with different dormancy temperatures applied to *P. clarkii*. Optimal dormancy conditions were determined based on different cooling rates, dormancy temperatures, and survival rates of *P. clarkii*. Changes in apparent traits, serum immune and antioxidant indicators, and muscle quality of *P. clarkii* under optimal dormancy conditions were then assessed. The critical dormancy temperature for *P. clarkii* was 7 °C, and the critical death temperature was 0 °C. The highest survival rates were observed at a cooling rate of 2 °C/h, 5 °C dormancy for 60 days, and a warming rate of 2 °C/h, with survival rates of (97.50±1.12)%, (60.50±2.02)%, and (98.33±1.05)%, respectively. Therefore, the optimal dormancy conditions were a cooling rate of 2 °C/h, 5 °C dormancy, and a warming rate of 2 °C/h. No significant differences in body weight, body length, condition factor (CF), hepatopancreas weight, or hepatopancreas index (HSI) were observed after 60 days of dormancy compared with 0 days under optimal conditions. Similarly, no significant differences in ACP activity, SOD activity, and MDA content were observed in the serum of *P. clarkii* after 15, 30, 45, and 60 days of dormancy ($P>0.05$). AKP activity at 30 days of dormancy was significantly higher than that at other time points ($P<0.05$), while AKP activity at 60 days was significantly lower ($P<0.05$). After 60 days of dormancy, muscle hardness and recovery of *P. clarkii* were significantly reduced ($P<0.05$), and cohesion was significantly increased ($P<0.05$); changes in muscle umami amino acids alanine, aspartic acid, glutamic acid, and glycine were not significant ($P>0.05$). In conclusion, the cooling rate of 2 °C/h, dormancy at 5 °C, and heating rate of 2 °C/h were optimal low-temperature dormancy survival conditions. After 60 days of dormancy under these optimal conditions, the apparent traits of *P. clarkii* did not change significantly. However, with prolonged dormancy, immune and antioxidant regulatory functions weakened, and survival rates decreased. Although low-temperature dormancy caused some changes in the physical and chemical properties of *P. clarkii* muscle, muscle flavor did not change significantly.

Key words: *Procambarus clarkii*; low-temperature dormancy; survival rate; immune function; muscle quality

Corresponding author: WANG Runping. E-mail: wrp201314@126.com