

研究简报

 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 对东方对虾(*Penaeus Orientalis*)

卵和幼体各期发育影响的探讨

陈觉民 奚 丹* 韩日方

(大连水产学院)

(庄河县养虾场)

EFFECT OF Zn^{2+} 、 Cu^{2+} ON THE EGGS AND DIFERENT
PERIOD LARVAE DEVELOPMENT OF PRAWN
(*Penaeus Orientalis*)

Chen Juemin Xi Dan

Han Rifang

(Dalian Fisheries College)

(Zhuang He Xian Prawn Farm)

东方对虾的虾苗育成均使用沿岸海水,海水中微量的铜、锌为离子是生物体生长发育的微量营养要素,但超量时就将危害虾苗的生命。由于沿海的工业开发,使海水中 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 等离子浓度有所增加,因此研究某些重金属离子对虾苗各阶段的生长发育影响,以及合理控制重金属离子浓度是非常必要的。

实验于1985年5月5日—5月28日在庄河县养虾场育苗室进行。培育容器采用5升三角瓶,分别装入2升试验海水,将瓶吊在育苗室7号池内,使容器内水温与育苗池水温保持一致。与育苗池同步育苗。实验海水均先经沉淀过滤,水质化学条件为:

 $S\% = 22 \sim 25$; $AlK = 2.5meL^{-1}$. $COD = 5.1mgO_2L^{-1}$; $pH = 8.1 \sim 8.5$. $Cu^{++} = 2.0PPb$; $Zn^{2+} = 12ppb$. $Cd^{2+} = 0.05PPb$; $Pb^{2+} = 0.8PPb$.

实验过程中,充气,水温以及投饵与加抗菌素等均与生产过程相同。在瓶内放入定量幼虫或卵,当卵或幼虫孵化进入下一期后,分别取出定量,确定受精卵与幼虫的成活率。

实验所用金属离子是由分析纯 $ZnSO_4$ 与 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 配成的浓度为 $1.00mg \cdot ml^{-1}$ 母液,EDTA二钠盐配成0.0500M母液(以下简称EDTA)。

重金属离子测定,采用AD—1型极谱仪,在pH为5—6条件下,以悬汞电极在 $-1.4V$ 下富集5分钟,用反向溶出法测活性锌(简称 Zn^{++}),用玻碳电极在 $-0.9V$ 条件下测活性铜(简称 Cu^{++})。在实验水中先加入大量 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 离子,然后以EDTA母液把自由 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 离子调节到一定浓度(指测出浓度)。换水时所换新水均按前法处理后使用。

本文于1986年12月20日收到。

* 奚丹是大连水产学院养殖系82届实习生,现分配中国水产科学院工作。

一、实验结果

庄河育苗室海水中含 Cu^{2+} 与 Zn^{2+} 的本底浓度平均为2PPb与12PPb。因此在每升实验海水中分别加入1000PPb的 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 标准液,然后按梯变分别加入不同量的EDTA标准液,并测出平衡后海水中活性 Cu^{2+} 与 Zn^{2+} 的含量,然后投放一定量的受精卵,观察对发育变态的影响。

表 1 Zn^{2+} 对受精卵孵化的影响

幼体密度 与影响 实验 日期	空白海水对照组 $\text{Zn}^{2+}=12\text{PPb}$ 实验液 2 升		$\text{Zn}^{2+}1012\text{PPb}$ 加EDTA3PPm 实验液 2 升		$\text{Zn}^{2+}1012\text{PPb}$ 加EDTA8.2PPm 实验液 2 升		$\text{Zn}^{2+}1012\text{PPb}$ 加EDTA 10PPm 实验液 2 升		水 温 ($^{\circ}\text{C}$)
1985.5.27 8.00 密度(万/ M^3) 1985.5.28 15.00	※E 1600粒 80.0	E 4000粒 200 同左	E 2300粒 115 中上层有一部分 无节幼体, 较为 活跃, 趋光性强 底层有许多孵化 卵	E 2500粒 125 同左	E 3000粒 150 无节幼体多在上 层趋光性极强, 活跃干净。	E 2700粒 135 同左	E 3300粒 165 同左	E 3200粒 160 同左	17.9
孵化出N ₁ 数量 密度(万/ M^3) 试验初始 Zn^{2+} 含量 (PPb) 孵化率(%) 平均孵化率	1300 65 12.0 81.2 78.1	3000 150 12.0 75.0	1200 60 24.3 52.2 50.1	1200 60 24.3 48.0	2000 100 19.6 66.7 77.8	2400 120 19.6 88.9	3000 150 17.1 90.9 89.2	2800 140 17.1 87.5	

※试验未加气头,试验瓶只随水流而摇动。

表 2 Cu^{2+} 对受精卵孵化的影响

幼体密度 与影响 实验 日期	空白海水对照组 $\text{Cu}^{2+}=2.0\text{PPb}$ 实验液 2 升		$\text{Cu}^{2+}=1002\text{PPb}$ 加EDTA4PPm 实验液 2 升		$\text{Cu}^{2+}=1002\text{PPb}$ 加EDTA5.8PPm 实验液 2 升		$\text{Cu}^{2+}=1002\text{PPb}$ 加 EDTA7.0 PPm 实验液 2 升		水 温 ($^{\circ}\text{C}$)
1985.5.27 8 00 密度(万/ M^3)	※E 1600粒 80	E 4000粒 200	E 2900粒 145	E 2500粒 125	E 3500粒 175	E 4400粒 220	E 3000粒 150	E 1900粒 95	17.9— 19.5
1985.5.28 15.00	无节幼体分布在 上层,趋光性极 强,活跃干净	同左	底层有较多的无 节幼体。多数卵 没有孵化	无无节 幼体	无节幼体多分布 在上层,趋光性 强,活跃干净	同左	同左	同左	20.2
孵化出 N_1 数量 密度(万/ M^3)	1300尾 65	3000尾 150	100尾 5	0尾 0	2300尾 140	3300尾 165	2400尾 120	1800尾 90	
实验初始 Cu^{++} 含 量(PPb)	2.0	2.0	13.2	13.2	8.0	8.0	2.8	2.8	
孵化率 (%)	81.3	75.0	3.4	0	80.0	75.0	80.0	94.7	
平均孵化率 (%)	78.2		1.7		77.5		87.4		

※试验未加气头,试验瓶随水流摇动

Zn²⁺、Cu²⁺对东方对虾(*Penaeus Orientalis*)

2期(总8期)

卵和幼体各期发育影响的探讨

105

表 3 Zn²⁺ 对 无 节 幼 体 的 影 响

幼体数量 与影响 试验日期	实验 条件	空白海水对照组 Zn ²⁺ =12PPb 实验水 2 升	Zn ²⁺ =1012PPb 加EDTA3PPm 实验水 2 升	Zn ²⁺ =1012PPb 加EDTA8.2PPm 实验水 2 升	Zn ²⁺ =1012PPb 加EDTA10PPm 实验水 2 升	水 温 (℃)			
1985.5.11 8.00 密度 (万/M ³)	※N ₁ 171尾 8.55	N ₁ 131尾 6.55	N ₁ 171尾 8.55	N ₁ 70尾 3.5	N ₁ 202尾 10.1	N ₁ 131尾 6.55	N ₁ 606尾 30.3	N ₁ 202尾 10.1	21
5.12日 8 点 观 察	进入N ₂ N ₃ 期 活泼, 干净	同左	有部分幼体死 亡	同左	幼体 活 泼 干 净, 进入N ₂ N ₃ 期	同左	同左	同左	22
5.13日 7 点 观 察	进N ₃ -N ₄ 期, 上层较多, 活 泼干净	同左	N ₃ 期死亡较 多, 活者多为 无刚毛或畸形	同左	N ₃ N ₄ 期多分 布在中上层, 干净	同左	有一半为Z ₁ 期, 活泼。N ₃ N ₄ 趋光性 强, 干净	同左	22
5.14日 7 点 观 察	Z ₁ 较活泼, 趋 光性较强	同左	从N ₃ -N ₄ 期死 亡无Z ₁	同左	Z ₁ 较活泼, 趋 光性较强101 尾	同左	Z ₁ 活跃趋光 性强, 多在上 层Z ₁ 104尾	同左	22
密度 (万/M ³)	169尾 8.45	Z ₁ 100尾 5.0	0	0	5.05	5.05	20.2	10.1	
成活率	98.8	76.3	0	0	50	77.1	66.7	100	
初始Zn ²⁺ 浓度(PPb)	12.0		24.3		19.6		17.1		
最后Zn ²⁺ 浓度(PPb)	11.6		21.2		16.5		14.0		
最后pH值	8.02		8.49		8.45		8.24		

※试验时未加气头, 试验瓶随水流摇动。

表 4 Cu²⁺ 对 无 节 幼 体 的 影 响

幼体数量 与影响 实验日期	实验 条件	空白海水对照组 Cu ²⁺ =2.0PPb 实验液 2 升	Cu ²⁺ =1002PPb 加EDTA2.0PPm 实验液 2 升	Cu ²⁺ =100PPb 加EDTA5.8PPm 实验液 2 升	Cu ²⁺ =1002PPb 加EDTA7.0PPm 实验液 2 升	水 温 (℃)
1985.5.11 8.00 密度 (万/M ³)	N ₁ ※ 170尾 8.5	N ₁ 131尾 6.55	N ₁ 373尾 18.65	N ₁ 576尾 28.8	N ₁ 232尾 11.6	N ₁ 303尾 15.15 70尾 3.5
5月12日 8点观察	幼体活泼干 净。	同左	大部死亡只有 少量活着	全部死亡	幼体活泼趋光 性强	同左 同左 同左
5月13日 14点观察	N ₃ N ₄ 分布在 层, 底部有污 浊物	N ₃ N ₄ 较 多	体色发白死亡	同左	N ₃ N ₄ 与 Z ₁ 各 占 1/2 有 部分 N ₃ N ₄ 与 Z ₁ 死 亡。	Z ₁ 占90% 活 泼, 趋光性强 同左
5月14日 7点观察	Z ₁ 较活泼分 布均匀	同左	死亡	同左	Z ₁ 在中上层 多, 有一半幼 体不活跃	Z ₁ 多居中 上 层, 趋 光 性 强, 活跃。 同左
密度 (万/M ³)	Z ₁ 170尾 8.5	Z ₁ 100 尾 5.0	0 尾 0	0 尾 0	Z ₁ 202尾 10.1	Z ₁ 202 尾 10.1
成活率	100	76.3	0	0	66.7	87.0
初始Cu ²⁺ 浓度(PPb)	2.0		32.2		8.0	2.8
最后Cu ²⁺ 浓度(PPb)	0.5		23.4		3.4	2.5

※试验时未加气头, 试验瓶随水流摇动。

表 5

 Zn^{2+} 对蚤状幼体发育的影响

幼体数量 与影响 试验时间	实 验 条 件	空白海水对照组 $Zn^{2+}=12PPb$ 实验水 2 升	$Zn^{2+}=1012PPb$ 加EDTA5PPbm 实验水 2 升	$Zn^{2+}=1012PPb$ 加EDTA8.2PPm 实验水 2 升	$Zn^{2+}=1012PPb$ 加EDTA11PPm 实验水 2 升	水 温 ($^{\circ}C$)			
1985.5.14 15.00 密度 (万/ M^3)	$Z_1 \times$ 653尾 32.65	Z_1 284尾 14.2	Z_1 227尾 11.35	Z_1 181尾 9.05	Z_1 327尾 16.55	Z_1 164尾 8.2	Z_1 80尾 4.0	Z_1 131尾 6.55	22.2
5.15.7.30 观察	幼体活泼 趋光性强	同左	有近半数死亡	同左	活泼, 趋光 性强	同左	活泼, 有少数 为 Z_2	同左	23.5
5.16.8.00 观察	较为活泼	同左	活者极活跃	有 % 死 亡, 底层 有少数活 幼体	活泼干净	同左	同左	同左	23.5
5.17.8.00 观察	同上	同上	同上	同上	同上	同上	同左	同左	23.5
5.19 观察	多死亡, 头变 型, 尾歪	有 Z_3 幼体	活者少, 其中 有少数为 M_1	同左	活跃, 干净 M_1 占 $\frac{1}{2}$ 艳粪	同左	活跃, 趋光性 强多分布于上 层, 有%为 M_1	同左	23.5
5.20.8.00 观察	活者多为 Z_3 数量明显下降	活者多为 M_1	活者一半为 M_1	同左	活跃, 趋光性 强多为 M_1	同左	同左	同上	24
进入 M_1 期 幼虫数量	100尾	184尾	75尾	25尾	276尾	75尾	60尾	83尾	
密度 (万/ M^3)	5.0	9.2	3.75	1.25	13.8	3.75	3.0	4.15	
成活率 (%)	15.3	64.8	33.0	25.2	84.4	45.7	75.0	63.4	
始初含 Zn^{2+} 量(PPb)	12.0		21.8		19.6		14.0		
最后含 Zn^{2+} 量(PPb)	10.7		20.0		16.5		7.7		
最后水质的pH	7.74		8.62		8.62		8.48		

表 7

 Zn^{2+} 对糠虾幼体的发育影响

幼体数量 与影响 试验时间	实 验 条 件	空白海水对照组 $Zn^{2+}=1.2PPb$ 实验海水 2.1 升	$Zn^{2+}=1012PPb$ 加EDTA 7 PPm 实验海水 2 升	$Zn^{2+}=1012PPb$ 加EDTA8.2PPm 实验海水 2 升	$Zn^{2+}=1012PPb$ 加EDTA11PPm 实验海水 2 升	水 温 ($^{\circ}C$)
M_1 数量 密度 (万/ M^3)	84尾 4.0	100尾 5.0	120尾 6.0	64尾 3.2		
1985.5.20—5.22 观察	幼体活泼, 趋光性强	同左	同左	同左		24— 24.5
5.23 8.00观察	幼体活泼, 趋光性 强部分变为 P_1	同左	有%幼体变为 P_1 平衡游泳、跳跃	同左		24.5
5.24 15.00观察	活泼, 趋光性强, 中 上层分布较多 P_2	有少量死亡, 大部 变成 P_2	同左	有死亡, 活者在中 上层居多。 P_2		25
五日后生存数 密度 (万/ M^3)	70尾 3.3	79尾 3.95	100尾 5.0	46尾 3.2		
存活率 (%)	83.3	79.0	83.3	71.9		
初始 Zn^{2+} 浓度(PPb)	12.0	23.1	19.6	14.0		
最后 Zn^{2+} 浓度(PPb)	10.7	19.5	16.0	7.8		
最后海水的pH	8.41	8.43	8.62	8.62		

**Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 对东方对虾(*Penaeus Orientalis*)
卵和幼体各期发育影响的探讨**

2期(总8期)

107

表6

Cu²⁺对蚤状幼体发育的影响

幼体数量 与影响 试验时间	实验 条件	空白海水对照组 Cu ²⁺ =2.0PPb 实验水 2 升	Cu ²⁺ =1002PPb 加EDTA4.0PPm 实验水 2 升	Cu ²⁺ =1002PPb 加EDTA5.8PPm 实验水 2 升	Cu ²⁺ =1002PPb 加EDTA8.0PPm 实验水 2 升	水 温 (℃)		
1985.5.14.15.00	Z ₁ 284尾	Z ₁ 352尾	Z ₁ 352尾	Z ₁ 138尾	Z ₁ 130尾	Z ₁ 342尾	Z ₁ 171尾	22.2
密度 (万/M ³)	14.2	17.6	17.6	6.9	6.5	17.1	8.55	
5.15.7.00 观察	活泼, 趋光 性强	全部死亡体 色发白	有极个别 活, 多数 死亡	Z ₂ 有 一半 活动弱, 趋 光性差	同左	多数 幼 体 活 跃, 趋 光 性 强, 干 净	同左	23.5
5.16.8.00 观察	同上	同上	全部死亡	中层幼体较 多, 趋光性 差, 大部个 体较弱	同左	中上层幼体 多, 活跃、 趋光性强	同左	23.5
5.17.8.00 观察	较为活泼	同上	同上	同上	同左	同上	同上	23.5
5.19.8.00 观察	同上	同上	同上	死亡较多	同左	有%变为M ₁ , 上层分布较 多, 趋光性强 , 活跃	同左	23.5
5.20.8.00 观察	较为活泼 M ₁ 184	同上 M ₁ 0	同上	中层分布有 M ₁ 但数量少 M ₁ 33尾	同左 M ₁ 25尾	上层M ₁ 较多, 跳跃, 趋光性 强M ₁ 287尾	同左 M ₁ 125尾	24
密度 (万/M ³)	9.2	0	0	1.65	1.25	14.35	6.25	
成活率 (%)	64.8	0	0	23.9	19.2	83.9	73.0	
初始Cu ²⁺ 浓度(PPb)	2.01	13.2	8.0	1.8				
最后Cu ²⁺ 浓度(PPb)	0.60	6.3	2.4	1.5				
最后水质的pH	7.74	8.30	8.54	8.79				

表8

Cu²⁺对糠虾幼体发育的影响

幼体密度 与影响 实验日期	试条 验件	空白海水对照组 $Cu^{2+}=2.0PPb$ 实验海水2.1升	$Cu^{2+}=1002PPb$ 加EDTA5.0PPm 实验海水3升	$Cu^{2+}=1002PPb$ 加EDTA5.8PPm 实验海水2升	$Cu^{2+}=1.002PPb$ 加EDTA8.0PPm 实验海水2升	水 温 (℃)
投放数量		M ₁ 84尾	M ₁ 210尾	M ₁ 83尾	M ₁ 56尾	
密度(万/M ³)		4.0	7.0	4.15	2.8	
1985.5.20 5月22日观察		幼体活跃, 趋光性 强多分希于中上层中	同左	同左	同左	24
5月23日观察 8.00		同上	同左	同左	同左	24.5
5月24日 观察15.00		幼体多变P ₁ , 趋光 性强	同左	同左	同左	24.5
生存密度(万/M ³)		3.33	6.0	3.5	2.5	25
生存尾数		P ₁ 70尾	P ₁ 180尾	P ₁ 70尾	P ₁ 50尾	
生存率(%)		83.3	85.7	84.3	89.3	
初始Cu ²⁺ 浓度(PPb)		2.0	14.0	8.0	1.8	
最后Cu ²⁺ 浓度(PPb)		0.6	10.4	2.4	1.5	
最后海水的pH		8.41	8.30	8.60	8.52	

响,详情见表1、2所示。其他各期幼体的实验,与卵孵化实验方法相同。为防止其他因素干扰,实验采取低密度饲养,在平行实验中也采取了不同的幼体密度。其实验结果详见表3、4、5、6、7、8所示。

二、讨 论

1. 从表1可看出在 Zn^{2+} 浓度为12—19.6PPb之间,有不低于66.7%的孵化率,如果 Zn^{2+} 浓度增加到21.3PPb,虽然密度只有60万/ M^3 ,但孵化率下降到50%左右,可见受精卵对 Zn^{2+} 的毒性有一定的抵抗能力。

在无节幼体阶段,对 Zn^{2+} 毒性的抵抗能力有所减弱,经过四天培育看出,在 Zn^{2+} 浓度为24.3PPb实验瓶中幼体全部死亡,它比王克行用纯静海水测出的96hTL_m为47PPb低。在24.3PPb Zn^{2+} 浓度中幼虫的表现是:幼体发育不正常,游泳能力差,趋光性弱,多分布于水体中下层,多数表皮及附肢上沾满污物。当幼体发展到5—6期后,绝大多数不变态而死亡。

在蚤状期,幼体对 Zn^{2+} 的毒性也很敏感,当 Zn^{2+} 浓度在12—19.6PPb之间,经六天培育,过渡到糠虾的成活率平均为57%,当 Zn^{2+} 浓度上升到21.8PPb时,幼体变态慢,死亡率大。培育成糠虾的成活率仅有25—33%(见表5)。

幼体在糠虾期, Zn^{2+} 浓度从12—23.1PPb在五天后达到仔虾的生存率均在70%以上,说明糠虾对 Zn^{2+} 有较强的忍受能力。据报道 Zn^{2+} 96hTL_m为300PPb,其安全浓度为30PPb,此点与实验结果基本相似,现将 Zn^{2+} 对幼体各期影响绘成图1,以便于分析对比。

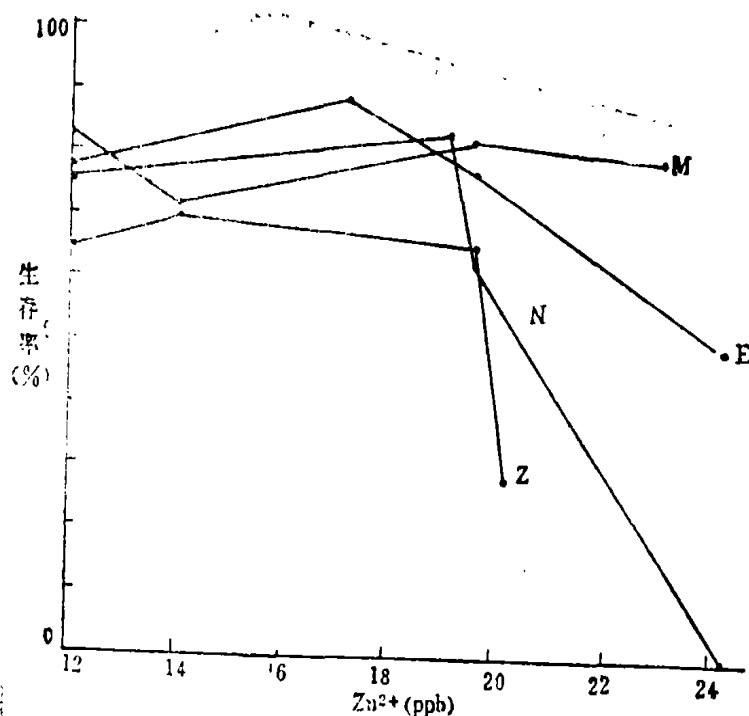


图1 Zn^{2+} 浓度对幼体各期生存率的影响

2. 实验表明 Cu^{2+} 对幼体的毒性作用比 Zn^{2+} 大。含 Cu^{2+} 为2.0—2.8PPb时,卵的平均孵化率为78.2—87.4%,当 Cu^{2+} 浓度增加到8.0PPb时尚有77.5%的孵化率,但 Cu^{2+} 浓度增至13.2

PPb时,受精卵基本上不能孵化(见表2),可见在 Cu^{2+} 浓度为8.00—13.2PPb之间有一孵化率突变浓度存在(即卵的急性中毒浓度)。

在无节幼体阶段,四天培育结果表明: Cu^{2+} 浓度在2.0—2.8PPb时无节幼体向蚤状幼体的变态成活率平均可达88%左右,当 Cu^{2+} 浓度为8.0PPb时,幼体不活跃,变态时间长,虽有66.7%—87.0的成活率,但有慢性中毒表现。当 Cu^{2+} 浓度上升到32.2PPb时,幼体无一变态,两天后大部分死亡(见表4)。

糠虾期,幼体对 Cu^{2+} 的抵抗能力有所增强,实验表明 Cu^{2+} 浓度从2.0—12PPb,均能培育出80%以上的仔虾(见表8)。现将 Cu^{2+} 对幼体各期的影响绘制成图2,供讨论参考。

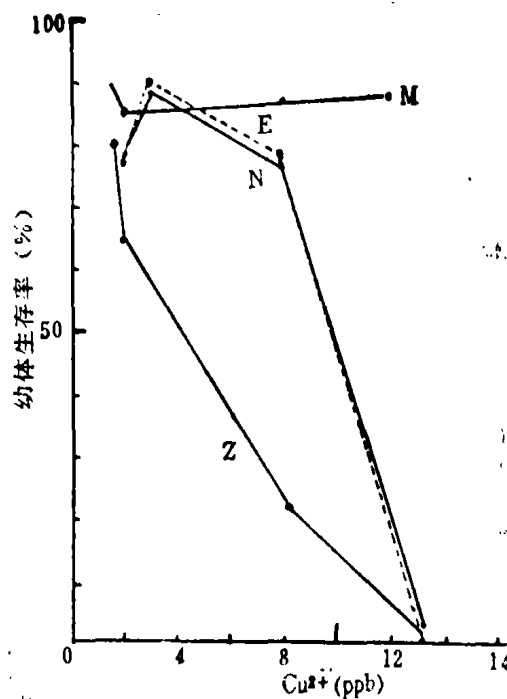


图2 Cu^{2+} 对幼体各期生存率的影响

从理论上讨论, Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 都是生物微量营养元素。例如 Zn^{2+} 对维生素A的代谢有重要作用,缺 Zn^{2+} 会出现生长停滞现象。但由于没有重复实验,上述效果尚难肯定,还有待于今后继续实验验证。

3. 综上所述,我们初步认为:对虾育苗水体中 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 含量不是越少越好,而是要控制在有利于孵化的最佳浓度范围内。为此利用阳极溶出伏安法进行水质监测,合理投放EDTA,是高密度育苗中,提高幼体各期成活率较为理想的手段之一。