

碳酸盐碱度和 pH 对中国林蛙蝌蚪的毒性作用

杨富亿, 邵庆春, 李景林, 陈国双

(中国科学院 东北地理与农业生态研究所, 吉林 长春 130012)

摘要: 为了解中国林蛙(*Rana chensinensis*)蝌蚪对水环境中碳酸盐碱度和 pH 的适应能力, 采用单因子静态急性毒性实验法进行研究。结果表明, 在 pH 7.0~8.5, 盐度 0.18 g/L 时, 碳酸盐碱度对中国林蛙蝌蚪的 24 h、48 h、72 h 和 96 h LC_{50} 值分别为 14.36、11.83、10.35 和 7.68 mmol/L, 安全值(SC)为 2.41 mmol/L。在相同盐度下, 碳酸盐碱度为 1.41 mmol/L 时, 中国林蛙蝌蚪的 pH 为 24、48、72 和 96 h LC_{50} 值, 碱性范围分别为 10.33、10.18、10.08 和 10.02, 酸性范围分别为 3.92、4.07、4.11 和 4.16。建议野外蝌蚪养殖水体的 pH 应控制在 6.0~8.0, 碳酸盐碱度保持在 1.5~3.5 mmol/L。

关键词: 中国林蛙; 蝌蚪; 碳酸盐碱度; pH; 毒性

中图分类号: S966.35, S912 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8737-(2005)01-0043-06

中国林蛙(*Rana chensinensis*)分布在我国以长白山区为主的北方部分省、区, 是当地山区重要的水产资源。由于其较高的经济价值和药用价值, 使得开发过度, 资源量下降。近年来开展的人工养殖与增殖, 显著地提高了资源量, 同时, 对促进山区水产业的发展, 也起到重要作用^[1-2]。在蝌蚪饲养过程中, 广泛采用 NaCl、CaO 和 Na_2CO_3 、 $NaHCO_3$ 等药物进行消毒防病与调节水体碱度和 pH^[3-5]。但由此而引起的碱度、pH 值等水环境因子的变化, 常常导致蝌蚪大量死亡, 影响变态蝌蚪和变态幼蛙的数量。

我国对中国林蛙养殖与增殖技术的研究开展较早, 目前已形成技术体系^[3, 6-8]。在生态学研究方面, 多集中于个体生物学^[9-11]、种群生态学^[12-13]和繁殖生态学^[14-15], 而水生生态因子对其自身的影响研究则较少, 仅见于王寿兵等^[16]关于水分对林蛙幼体生存的影响研究。有关水生生物对碱度、pH 值的适应性研究, 也多为鱼、虾类^[17-20]; 黄辨非等^[21]曾对沼泽绿牛蛙(*Rana gryllus*)蝌蚪对盐度和酸碱度(pH)的耐受性进行过探讨。本实验研究碳酸盐碱度和 pH 对中国林蛙蝌蚪的毒性作用, 旨在摸清中国林蛙蝌蚪对这 2 种水生态因子的适应能力, 为促进中国林蛙养殖业的发展提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验在吉林省柳河县大泉眼中国林蛙养殖基地的山间蛙池边进行。采用换水式实验, 期间气温 17~22℃, 实验水温 16~18℃, 溶解氧 5~8 mg/L。所用蝌蚪取自饲养池, 为 37 日龄, 体长 (14.7 ± 2.2) mm, 体重 (347.4 ± 82.7) mg, 无伤病, 实验前暂养 2 d, 实验容器为 6 L 的圆形塑料盆。以蝌蚪池水为实验基础用水(源于山泉), pH 7.0~8.5, 含盐量 0.18 g/L, 碳酸盐碱度 1.41 mmol/L。

1.2 碱度毒性实验

根据野外饲养蝌蚪的水体碱度较低的特点, 碱度在 2.0~20.0 mmol/L, 以公差 2 mmol/L 设 10 个实验梯度, 并设 1 个对照组(蝌蚪池水)。每个实验梯度(包括对照组)均设 2 个重复, 随机放入蝌蚪 15 尾, 结果取其平均值。碳酸盐碱度采用市售食用 Na_2CO_3 和 $NaHCO_3$ 控制。实验期间, pH 保持在 7.0~8.5, 并用 0.1 mol/L HCl 和 0.1 mol/L NaOH 调节。为确保 pH 和碱度梯度均在所设定的范围内, 当 pH>8.5 时, 用 HCl 和 $NaHCO_3$ 调节; 当 pH<7.0 时, 用 Na_2CO_3 和 NaOH, 加入量按“天然水体 pH 值基本调整方程”计算^[22]。鉴于上述碱度梯度采用实测值并以此作计算。每隔 12 h 更换 50% 的水量。

收稿日期: 2004-03-02; 修订日期: 2004-07-12。

基金项目: 中国科学院知识创新工程重大项目(KZCX1-YCA-07)。

作者简介: 杨富亿(1964-), 男, 副研究员, 主要从事区域农业(渔业)研究。E-mail: yangfuyi@neigae.ac.cn

1.3 pH 毒性实验

先进行酸性范围和碱性范围的预备实验。以 0.2 pH 单位为公差,在 pH 分别为 3.0~5.0 和 9.0~11.4,各设置 11 和 13 个梯度。根据其结果,确定正式实验的 pH 梯度分别为 3.7、3.9、4.1、4.3、9.5、9.7、10.2、10.5 和 11.0,并设 1 个对照组(蝌蚪池水)。每个实验梯度均设 2 个重复,随机放入蝌蚪 15 尾,结果取其平均值。每隔 8 h 更换 1/4 水量。用上述浓度的 HCl 和 NaOH 控制 pH。

1.4 水质分析与数据处理

碳酸盐碱度采用 0.02 mol/L HCl 标定,以甲基橙-苯胺蓝混合作指示剂^[23]。pH 用 pHB-4 型酸度计监测。用“算术比例法”^[24]计算碳酸盐碱度和 pH 对蝌蚪的半致死值(LC₅₀)、全致死值(LC₁₀₀)和零致死值(LC₀);碳酸盐碱度对蝌蚪生存的安全值

(SC)的计算公式为:

$$SC = 48 \text{ h LC}_{50} \times 0.3 / (24 \text{ h LC}_{50} / 48 \text{ h LC}_{50})^{2.25}$$

2 结果

2.1 碳酸盐碱度对中国林蛙蝌蚪的毒性作用

碱度为 2.12~10.72 mmol/L 的各组蝌蚪至 96 h 仍有部分存活,其中,2.12 mmol/L 组存活率达 100% (表 1)。碱度高于 10.72 mmol/L 的各组蝌蚪至 96 h 全部死亡,其中,20.21 mmol/L 组在蝌蚪入水 1 h 12 min 时全部死亡;16.24 mmol/L 和 18.74 mmol/L 组的蝌蚪入水 41 h 57 min 时,死亡率均达 100%。4.17~10.72 mmol/L 的各组蝌蚪失去平衡较长时间才开始死亡。实验观察到的蝌蚪中毒反应症状和死亡过程,与沼泽绿牛蛙蝌蚪基本相同^[21]。

表 1 不同碳酸盐碱度下中国林蛙蝌蚪的死亡率、致死值和安全值

Tab. 1 Lethal rate, LC and SC of tadpoles of frog *R. chensinensis* at different carbonate-alkalinity

碱度 (mmol·L ⁻¹) Alkalinity	24 h		48 h		72 h		96 h	
	死亡数/尾 Lethal number	死亡率/% Mortality	死亡数/尾 Lethal number	死亡率/% Mortality	死亡数/尾 Lethal number	死亡率/% Mortality	死亡数/尾 Lethal number	死亡率/% Mortality
2.12	0	0	0	0	0	0	0	0
4.17	0	0	0	0	0	0	2	13.3
6.92	0	0	0	0	2	13.3	6	40.0
8.44	0	0	0	0	5	33.3	9	60.0
10.72	2	13.3	5	33.3	8	53.3	13	86.7
12.49	5	33.3	9	60.0	12	80.0	15	100
14.73	8	53.3	12	80.0	13	86.7	15	100
16.24	12	80.0	15	100				
18.74	13	86.7	15	100				
20.21	15	100						
对照组 Control	0	0	0	0	0	0	0	0
LC ₀	8.76		8.51		4.65		3.88	
LC ₅₀	14.36		11.83		10.35		7.68	
LC ₁₀₀	19.96		15.14		16.05		11.48	
SC	2.41							

2.2 pH 对中国林蛙蝌蚪的毒性作用

蝌蚪的死亡率先随着 pH 的升高而下降,又随着 pH 的继续升高而增加(表 2)。pH 4.3~9.7 的各组蝌蚪 96 h 存活率均为 100%,说明在此范围内,pH 对蝌蚪 96 h 存活率没有明显影响。而 pH 低于 4.3 和高于 9.7 的各组蝌蚪,至 96 h 仅有少量存活(13.3%~26.7%),其中,3.7 和 11.0 组蝌蚪 24 h

内全部死亡,而 10.5 组蝌蚪未到 72 h 就已经全部死亡。如果把 pH 低于 4.3 作为酸性范围,高于 9.7 作为碱性范围,则酸性范围 96 h LC₀ 值与碱性范围 96 h LC₀ 值区间为蝌蚪生存的适应范围,即 pH 为 4.3~9.7;酸性范围 24 h LC₁₀₀ 值和碱性范围 24 h LC₁₀₀ 值分别是最低耐受限和最高耐受限,即 pH 分别为 3.6 和 10.7。

表 2 不同 pH 下中国林蛙蝌蚪的死亡率和致死值

Tab.2 Lethal rate and LC of tadpoles of frog *R. chensinensis* at different water pH

pH	24 h		48 h		72 h		96 h	
	死亡数/尾 Lethal number	死亡率/% Mortality	死亡数/尾 Lethal number	死亡率/% Mortality	死亡数/尾 Lethal number	死亡率/% Mortality	死亡数/尾 Lethal number	死亡率/% Mortality
3.7	15	100						
3.9	8	53.3	11	73.3	12	80.0	13	86.7
4.1	4	26.7	7	46.7	8	53.3	11	73.3
4.3	0	0	0	0	0	0	0	0
9.5	0	0	0	0	0	0	0	0
9.7	0	0	0	0	0	0	0	0
10.2	5	33.3	8	53.3	10	66.7	12	80.0
10.5	11	73.3	14	93.3	15	100		
11.0	15	100						
对照组 Control	0	0	0	0	0	0	0	0
LC ₀	4.23 ¹⁾	9.95 ²⁾	4.45 ¹⁾	9.80 ²⁾	4.30 ¹⁾	9.70 ²⁾	4.30 ¹⁾	9.70 ²⁾
LC ₅₀	3.92 ¹⁾	10.33 ²⁾	4.07 ¹⁾	10.18 ²⁾	4.11 ¹⁾	10.08 ²⁾	4.16 ¹⁾	10.02 ²⁾
LC ₁₀₀	3.55 ¹⁾	10.70 ²⁾	3.70 ¹⁾	10.55 ²⁾	3.92 ¹⁾	10.45 ²⁾	4.03 ¹⁾	10.33 ²⁾

注:1)各时间致死值 pH 低值; 2)各时间致死值 pH 高值。

Note:1)Low limitation; 2)High limitation.

3 讨论

3.1 中国林蛙蝌蚪对碳酸盐碱度的适应能力

在本实验条件下,中国林蛙蝌蚪对碳酸盐碱度的耐受能力明显低于耐碱能力最差的鲢鱼(*Hypophthalmichthys molitrix*)种,其 24 h LC₅₀值、SC 值分别只有鲢鱼种的 13%和 7%(表 3)。中国林蛙蝌蚪的这种低耐碱性,可能与其长期生活在低盐度(<0.2 g/L)、低碱度(<1.0 mmol/L)的山间溪流环境有关。一般认为养殖水体的碱度在 1.0~3.0 mmol/L,其饵料生物生产力较高,养殖效果也较好^[23];在 1.5~3.5 mmol/L 则非常适宜鱼、虾等水生动物生长^[27]。上述指标虽然在中国林蛙蝌蚪生存的安全碱度范围,但蝌蚪对碳酸盐碱度的适应能力远低于淡水鱼类。在一定的 pH 条件下,碳酸盐碱度越高,对蝌蚪的致死作用越大。这与碱度对淡水鱼类的毒性作用规律是一致的^[18]。由于碱度与 pH 具有较强的协同作用,本实验的 pH 若达到表 3 中所列各实验水体指标,蝌蚪对碳酸盐碱度的耐受能力将会更低。

孔祥文等^[28]在研究中国林蛙雌化技术的实验中认为,水体保持一定的盐离子浓度有利于提高雌性林蛙比例,并提出较适宜的离子质量浓度为 2~3 g/L。相比之下,山泉水的盐离子浓度要低得多,再加上较低的碱度,使得养殖蝌蚪的水体既无助于增加雌性林蛙比例,也不利于饵料生物生产力的

提高,养殖效果较差,影响蝌蚪变态。往水体加入适量的 Na₂CO₃和 NaHCO₃,可同时提高盐离子浓度和碱度,故实际生产中多被采用。但因加入的总量及其比例掌握不当,经常导致水体碱度大幅度升高而毒死蝌蚪。根据笔者的实验观察,在一定的数量和比例范围内,随着水体总碱度(碳酸盐碱度与重碳酸盐碱度之和)的升高,雌性林蛙比例有上升的趋势。本实验结果表明,即使在这种特定环境下,水体碱度也不应无限度地提高。为兼顾水体生产力、蝌蚪生长与雌蛙比例,建议野外蝌蚪饲养池水体的碱度控制在 1.5~3.5 mmol/L。若调高水体碱度,其上限也不应超过 96 h LC₀值,即 4.0 mmol/L。

3.2 中国林蛙蝌蚪对 pH 的适应能力

各种水生动物对水环境的 pH 都有一定的适应范围。如草鱼、鲢、鳙、青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)等淡水鱼类的适应范围为 4.6~10.2,鲤(*Cyprinus carpio*)为 4.4~10.4^[23]。总体上看,中国林蛙蝌蚪对 pH 的耐受能力与淡水鱼类、中国对虾及沼泽绿牛蛙蝌蚪基本一致(表 3),对渔业水质标准的 pH 范围 6.5~8.5 也同样适宜。但就蝌蚪养殖而言,这只是生存的安全范围,并不能代表养殖生产的最适宜范围。有人曾调查了水质 pH 与鱼产量的关系,认为 pH 在 6.5~7.5 对高产较为有利,在 7.5~8.5 则多为平产。从我国一些高产鱼塘的经验看,水质环境的 pH 多呈中性-弱碱性^[23]。这也为蝌蚪养殖提供了参考。

表3 pH和碳酸盐碱度对某些水生动物的半致死值和安全值

Tab.3 LC₅₀ and SC of some freshwater zoology on water pH and carbonate-alkalinity

影响 因素 Factors	种类 Species	LC ₅₀				安全值 SC	主要实验条件 Main conditions			参考文献 Reference
		24 h	48 h	72 h	96 h		pH	S	CA	
碱度/(mmol·L ⁻¹) Alkalinity	麦穗鱼 <i>Pseudorasbora parva</i>	78.8	74.5		72.2	20.0	9.7	5.5		[20]
	雅罗鱼 <i>Leiscisc waleckii</i>	78.8	73.9		69.2	19.5	9.6	5.5		
	青海湖裸鲤 <i>Gymnocypris przewalskii</i>		99.9		99.9		9.6	5.5		
	鲫 <i>Carassius auratus</i>	73.9	73.9		72.2	22.17	9.6			
	中国对虾(幼虾) <i>Penaeus chinensis</i>	22.0					8.6			[17]
		11.7					9.0			
		6.6					9.3			
		3.3					9.5			
	草鱼 <i>Ctenopharyngodon idellus</i>	82.2	77.6			20.8	8.7			[18]
		65.7	53.0		34.0	10.4	9.1			
	鲢(鱼种) <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	109.0	109.0	105.0	105.0	32.7	8.3			
		95.0	91.7	90.0	76.7	25.6	8.7			
		72.9	70.9	59.3	51.6	20.1	9.0			
		59.4	50.1		35.6	10.7	9.2			
		59.5	59.5	52.3	52.3	17.9	9.3			
		44.3	42.5	40.0	38.9	11.7	9.4			
		29.9	26.5	24.1	21.1	6.2	9.6			
	鳊(鱼种) <i>Aristichthys nobilis</i>	65.7	53.0		34.0	10.3	9.1			
		59.4	50.1		35.6	10.7	9.2			
pH	鲢(鱼苗) <i>H. molitrix</i>	10.14	10.10		9.84				8.8	[18]
		9.64	9.62	9.54	9.38				15.8	
	沼泽绿牛蛙蝌蚪 <i>Rana gryllus</i>	3.8/10.8	3.8/10.7	3.9/10.1	4.1/-				5.4	[21]
	中国对虾(幼虾) <i>Penaeus chinensis</i>	9.30								[17]
	黄颡鱼 <i>Pseudobagrus fulvidraco</i>	3.1/9.4	3.2/9.2	3.3/8.5	3.3/8.2					[25]
	黄鳝 <i>Monopter albus</i>	4.7/>9.0	5.0/>9.0	5.1/9.0	5.2/8.5					[26]

注:SC—为本文作者计算结果。

Note: SC—Calculated results of the author.

另据报道^[29],酸性水体有使雌性林蛙比例增加的趋势,而碱性水体则相反,认为饲养蝌蚪的水体pH在5.5~7.0为宜。但根据笔者的实验观察,这种弱酸性水环境水质清瘦,饵料生物贫乏,并不利于蝌蚪的正常生长发育,进而影响其变态进程和变态幼蛙的体质与规格^[6]。为兼顾蝌蚪正常生长发育

和水体饵料的生产力,建议生产上在采用这种方法来增加雌性林蛙比例时,饲养蝌蚪的水环境pH控制在6.0~8.0。

林蛙养殖业的经济效益直接取决于雌蛙的比例,生产上通过物理、化学、生化等措施,来增加林蛙种群中雌性比例。其中,调碱法和调酸法(皆为笔者

称谓)是2种较为简便易行的方法。由水体 CO_2 — HCO_3^- — CO_3^{2-} 缓冲系统可知,水环境的pH值主要取决于 HCO_3^- 和 CO_3^{2-} 浓度的比例^[23]。采用调碱法往水体中加入 Na_2CO_3 和 NaHCO_3 时,虽然水体盐离子浓度及总碱度同时升高,但该环境下决定pH的 $\text{CO}_3^{2-}/\text{HCO}_3^-$ (mmol/L)比值不一定有较大变化,因而pH变化也不明显。据笔者的实验观察,pH在这一过程相对较稳定,有时甚至还会下降。因为加入的 Na_2CO_3 和 NaHCO_3 都是有一定比例的,否则,将对提高雌性林蛙比例效果不明显乃至不起作用。在采用调碱法提高雌性比例时,有时需要加入一些农用 H_2SO_4 ,结果使水体 HCO_3^- 浓度下降,而 CO_3^{2-} 浓度升高,该环境下决定pH的 $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$ 比值降低;又因清瘦的水质导致水生植物的光合作用较弱,抑制了pH的升高。这2种途径综合作用的结果,使水环境的pH下降。综上所述可知,生产上所采用的这2种雌性诱导措施,实际发挥作用的水环境因子是不一样的。其中,调碱法在考虑增加盐离子浓度的同时,还应注意水体总碱度的升高幅度。根据本实验结果,碱度和pH都应控制在适宜范围,这样才能达到雌性诱导和水环境优化互利。

碱度和pH都直接或间接地影响水生生物的生命过程^[19,30-32],是水环境中较为重要的生态因子。针对中国林蛙养殖生产中存在的实际问题,本实验只进行了单因子急性毒性实验,对其交互作用情况尚不清楚。同时,蝌蚪只是中国林蛙生命过程的一个阶段,受精卵、胚胎、变态蝌蚪、变态幼蛙等对水环境pH和碳酸盐碱度的适应性,均需进一步实验观察。

参考文献:

- [1] 许殿申.中国林蛙养殖现状及发展对策分析[J].吉林农业科学,1997(2):91-93.
- [2] 董明水.中国林蛙养殖存在的问题与对策[J].辽宁林业科技,2001(6):29-30.
- [3] 李利人,王康章.中国林蛙养殖高产技术[M].北京:中国农业出版社,1997.1-10,61-106.
- [4] 王宝贵,王建军,付立中.林蛙蝌蚪与幼蛙的人工饲养[J].吉林农业科学,1993(3):83-84.
- [5] 王佐君,王宝贵,黄玉珠,等.蛤士蟆养殖技术[J].吉林畜牧兽医,1997(12):37.
- [6] 杨富亿,邢庆春,李景林,等.长白山林区林蛙养殖关键技术[J].水利渔业,1999,19(5):7-9.
- [7] 霍洪亮,李东风.中国林蛙人工养殖技术要点[J].淡水渔业,2002,32(2):30-31.
- [8] 于洪贤,朱世兵.中国林蛙集约化人工养殖及越冬技术研究[J].水利渔业,2003,23(1):23-25.
- [9] 王寿兵,蒋朝光,屈云芳,等.野生和人工养殖辽宁中国林蛙肥满度和重/长指标的初步研究[J].应用生态学报,1999,10(1):91-94.
- [10] 卢欣.太岳丘陵地带中国林蛙成体的肥满度和某些器官系数的季节变化[J].生态学杂志,1993,14(4):33-35.
- [11] 刘玉文,刘治国,赵新民,等.中国林蛙在人工生态系统中的生物学特性[J].水产科学,1998,17(3):23-25.
- [12] 刘玉文.中国林蛙数量性状的统计分析[J].两栖爬行动物学研究,1995(4-5):51-55.
- [13] 胡长群,宋丽文,孙守慧,等.中国林蛙种群数量分布的研究[J].吉林林业科技,1999(6):19-22.
- [14] 胡长群.中国林蛙人工繁殖技术要点[J].吉林林业科技,2002(1):29-43.
- [15] 卢欣.中国林蛙的生殖量特征及其地理变化[J].生态学报,1994,14(2):209-241.
- [16] 王寿兵,屈云芳,经佐琴,等.中国林蛙幼体适宜生存环境的探讨[J].动物学杂志,1997,32(1):38-41.
- [17] 房文红,王慧,宋玲芳.碳酸盐碱度、pH对中国对虾幼虾的致毒效应[J].中国水产科学,2001,7(4):78-81.
- [18] 雷衍之,董双林,沈成刚,等.碳酸盐碱度对鱼类毒性作用的研究[J].水产学报,1985,9(2):171-183.
- [19] 章征忠,张兆琪,董双林,等.pH、盐度、碱度对淡水养殖种类影响的研究进展[J].中国水产科学,1999,6(4):95-98.
- [20] 史为良.我国某些鱼类对达里湖碳酸盐型半咸水的适应能力[J].水生生物学集刊,1981,7(3):359-369.
- [21] 黄辨非,罗静波.沼泽绿牛蛙蝌蚪对盐度和酸碱度的耐受性研究[J].水利渔业,1998(5):26-28.
- [22] 陈佳荣.水化学[M].北京:中国农业出版社,1996.66-71.
- [23] 雷衍之.淡水养殖水化学[M].南宁:广西科学技术出版社,1993.65-77,114-116,164-166.
- [24] 姜忠玉,钱续.福尔马林对银鲑鱼苗半致死浓度试验[J].水利渔业,2003,23(1):58.
- [25] 吴萍,曹抚华,杨立荣,等.pH对黄鲈鱼生存和生长的影响[J].水利渔业,2001,21(6):3-4,6.
- [26] 杨代勤,陈芳,肖海洋,等.pH值对黄鲈鱼生存和生长的影响[J].水利渔业,2001,21(1):13.
- [27] 张庆,谢山,黄道明,等.红旗湖水质化学及其评价[J].水利渔业,2000,20(3):43-44.
- [28] 孔祥文,于立忠,杨桂芹,等.中国林蛙雌化技术研究[J].辽宁林业科技,2000(4):13-24,33.
- [29] 卫功庆,白秀娟.林蛙养殖技术[M].北京:金盾出版社,2000.37-63,99-100.
- [30] 沈文英,寿建听,祝尧荣,等.银鲈消化酶活性与pH值的关系[J].水产科学,2002,21(6):10-12.
- [31] 席貽龙,黄祥飞.pH值对罗花臂尾轮虫种群动态和休眠卵的影响[J].中国水产科学,1999,6(3):19-22.
- [32] 马广智,唐政,徐军.低pH对草鱼鳃和肝脏组织超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响[J].中国水产科学,2001,8(1):23-25.

Toxicity of pH and carbonate alkalinity on tadpoles of frog *Rana chensinensis*

YANG Fu-yi, SHAO Qing-chun, LI Jing-lin, CHEN Guo-shuang

(Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology, CAS, Changchun 130012, China)

Abstract: *Rana chensinensis* is one of the principal wild economic animal of the Changbai Mountain Area in China. As its resource is excessively developed, the amount is decreasing a lot. But it has been increased remarkably because artificial cultivating and enhancement in recent years. NaCl, CaO, Na₂CO₃ and NaHCO₃ are widely adopted in tadpole culture to carry out disinfection of waters, and regulation for the alkalinity and the pH of waters. But this can produce great impacts on survival of tadpoles and growth of young frog. In China, technology on artificial enhancement and cultivating of *R. chensinensis* not only has been researched for a long time, but also the technology systems are taking shape at the moment. Yet, effects of ecological factor of waters on *R. chensinensis* are researched less than the studies on *R. chensinensis* ecology. In this experiment, the toxicity of water pH and carbonate alkalinity to tadpoles of frog was studied in order to understand adaptability of tadpoles on two ecological factors of waters, and provide culture industry of *R. chensinensis* with scientific data.

Acute toxicity was determined at water temperatures from 16 to 18 °C in wild by one-way toxicity test. The tadpoles used in the test were cultured by the institute at 37 days of age, body length (14.7 ± 2.2) mm, body weight (347.4 ± 82.7) mg. The water in tadpole pond was used for basic water in test, of which pH was from 7.0 to 8.5, salinity about 0.18 g/L and water carbonate alkalinity 1.41 mmol/L. The water carbonate alkalinity was set from 2.0 to 20.0 mmol/L at gradient intervals of 2.0 mmol/L, and a control group in the water of tadpole pond, each gradient with two replicates and 15 individuals each. The water carbonate alkalinity was controlled by Na₂CO₃ and NaHCO₃, and the water pH of test groups was maintained at 7.0–8.5 (the same as tadpole pond) during the experiment, and was regulated by HCl of 0.1 mol/L and NaOH of 0.1 mol/L. The water was exchanged by 1/2 volume every 12 h. In pH toxicity test, first of all, a pre-test was designed to decide the correct pH range for the normal test. On the basis of the pre-test, the water pH were designed as 3.7, 3.9, 4.1, 4.3, 9.5, 9.7, 10.2, 10.5 and 11.0. During the test, the water was exchanged by 50% volume every 8 h.

The results showed that at water salinity 0.18 g/L, water carbonate alkalinity 1.41 mmol/L and pH 4.3–9.7, the 96 h survival rate of tadpole was not affected. The 24 h, 48 h, 72 h and 96 h LC₅₀ of pH to tadpole were 10.33, 10.18, 10.08 and 10.02 in the upper limit, which were 3.92, 4.07, 4.11 and 4.16 in the prescribed minimum, respectively. The 24 h, 48 h, 72 h and 96 h LC₀ of pH to the tadpoles were 9.95, 9.80, 9.70 and 9.70 in the upper limit, of which the prescribed minimum were 4.23, 4.45, 4.30 and 4.30, respectively. 24 h, 48 h, 72 h and 96 h LC₁₀₀ of pH to tadpoles were 10.70, 10.55, 10.45 and 10.33 in the upper limit, which were 3.55, 3.70, 3.92 and 4.03 in the prescribed minimum, respectively. The 24 h, 48 h, 72 h and 96 h LC₅₀ of carbonate alkalinity to tadpoles were 14.36, 11.83, 10.35, and 7.68 mmol/L at water pH 7.0–8.5 and at water salinity 0.18 g/L, respectively. The 24 h, 48 h, 72 h and 96 h LC₀ were 8.76, 8.51, 4.65 and 3.88 mmol/L, respectively. The 24 h, 48 h, 72 h and 96 h LC₁₀₀ were 19.96, 15.14, 16.05 and 11.48 mmol/L, respectively, and the safe concentration was 2.41 mmol/L. The adaptability of tadpole to water carbonate alkalinity is not so good as that of freshwater fish, but in terms of pH adaptability, both are the same. The survival rate of tadpole dropped with the increase of water pH and water carbonate alkalinity. For survival and growth of tadpoles, the suitable water carbonate alkalinity is 1.0–3.0 mmol/L, and pH 6.0–8.0.

Key words: *Rana chensinensis*; tadpole; carbonate alkalinity; pH; toxicity