

文章编号:1005-8737(2000)04-0078-04

碳酸盐碱度、pH 对中国对虾幼虾的致毒效应

房文红, 王 慧, 来琦芳

(中国水产科学研究院 东海水产研究所, 上海 200090)

摘 要:实验结果表明, pH 为 8.6、9.0、9.3 和 9.5 时, 中国对虾(*Penaeus chinensis*)幼虾 24 h 半致死碱度(LC₅₀)分别为 22.00、11.66、6.57 和 3.28 mmol/L; 随着碱度、pH 的升高, 中国对虾幼虾的存活率下降。碱度和 pH 对幼虾的致毒效应具综合作用, pH 8.6~9.0 时, HCO₃⁻、CO₃²⁻ 共同影响幼虾的存活率; pH 9.0~9.5 时, OH⁻ 协同 CO₃²⁻ 影响幼虾的成活; pH 9.5 以上时, OH⁻ 逐渐成为影响幼虾成活的主要因子。

关键词: 中国对虾; 幼虾; 碳酸盐碱度; pH; 毒性; 存活率

中图分类号: S945.46

文献标识码: A

关于碱度和 pH 对水生生物的毒性作用, 早在 60 年代初张礼善^[1]对我国青鱼、草鱼、鲢、鳙、鲤 5 大淡水养殖鱼对氢离子(pH)的生存适应性, 史为良^[2]就我国某些鱼类对达里湖碳酸型半咸水的适应性做过一些试验和调查; 雷衍之等^[3]较为详细地进行了碱度对鲢等夏花鱼种的毒性研究, 分析碱度各成分的作用及相互关系; 臧维玲等^①研究了 pH 与盐度对鲢鳙夏花鱼种的协同毒害作用, 探讨 pH 与盐度半致死值之间的相关性。在甲壳类中, 仅见董双林^[4]报道不同 pH 对日本沼虾生长和能量收支的影响。有关中国对虾对碱度的适应性, 尚未见报道。我国西北内陆盐碱水域的碱度和 pH 均比较高, 如欲将中国对虾移植到这些水域, 必先研究中国对虾对该水域碱度、pH 的适应能力, 以适宜其生存和生长。

1 材料和方法

1.1 材料

收稿日期: 2000-06-05

基金项目: 农业部重点科研资助项目(淮 85-91-10-2)

作者简介: 房文红(1968-), 男, 江苏兴化人, 中国水产科学研究院东海水产研究所助理, 从事水产养殖研究。

① 臧维玲, 等. 盐度对鱼类毒性作用的研究. 上海水产大学科技文集, 1987, (11): 23-33.

1.1.1 中国对虾幼虾 为本所试验场池养殖, 经过盐度淡化至试验盐度为 6, 充气暂养 1 夜后, 挑选体质健壮、个体大小均匀的幼虾做试验, 每组放养 20 尾, 全长为 2.4 cm 左右。

1.1.2 人工海水 用蒸馏水添加化学试剂配制, 采用朱树屏人工海水 B 液配方^[5]。

1.2 试验设计

根据我国内陆咸水水域高碱度、高 pH 的特点设计急性毒性试验的 pH 和碱度梯度, 分 2 种设置: (1) 同一碱度、不同 pH, 碱度在 (6.12 ± 0.98) mmol/L (试验期间各试验组海水 pH 因受空气 CO₂ 分压和虾呼吸的影响略有变化, 在校正 pH 时影响了试验水碱度的变化, 故其变化范围在此范围), pH 分别为 8.2、8.4、8.6、8.8、9.0、9.2 和 9.4 左右。(2) 同一 pH (共 4 个 pH 系列)、不同碱度, 见表 1。以 24 h 存活率作计算。

总碱度和 pH 用 NaHCO₃ 和 Na₂CO₃ 来控制。试验期间每隔 3 h 更换 1/2 试验用水, 个别组用 0.1 mol/L HCl 或 0.1 mol/L NaOH 调节 pH。试验容器为 5 L 的圆形塑料盆。试验设 2 个平行组, 每一系列均有相应盐度的自然海水和人工海水各 1 组作对照, 试验水温为 19~21℃。

1.3 水质分析

pH 采用 PHS-2 型精密酸度计测定; Ca²⁺ 采用

表 1 各 pH 系列组的碱度梯度设置

pH	碱 度 Alkalinity									mmol/L
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
8.6	7.0	10.0	13.0	16.0	19.0	22.0	25.0	28.0	31.0	
	8.78	10.80	13.82	16.60	18.82	21.88	24.30	29.31	30.75	
9.0	6.0	8.0	10.0	12.0	14.0	16.0				
	6.71	8.52	10.14	11.39	13.08	14.86				
9.3	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0			
	3.86	4.57	5.38	5.96	6.68	8.12	9.06			
9.5	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0				
	2.14	3.50	4.02	4.86	5.27	6.04				

注:每栏数据上方为试验设置碱度,下方为实测碱度的平均值。In each row the upper data represent the designed alkalinity and the lower represent the average determined values.

EDTA-2Na 络合法;碱度采用酸碱滴定法,以甲基橙、苯胺蓝混合指示剂^[6]。试验前后测定试验水中的 Ca^{2+} 和碱度。

2 结果

2.1 pH 对中国对虾幼虾的急性毒性试验

在碱度(6.12 ± 0.98) mmol/L 范围内, pH 对中国对虾幼虾的 24 h 急性毒性试验结果见图 1, 对照组成活率为 100%。pH 为 8.2~8.6 时, 对虾的存活率很高, 都在 95% 以上; 海水 pH 增大到 9.0 时, 存活率略有下降, 幼虾 24 h 存活率略大于 90%; 当 pH 为 9.2 时, 幼虾存活率为 80%; 而 pH 9.4 时, 其存活率明显下降, 试验开始后 6 h 死亡率就达 85%, 24 h 后全部死亡。这一结果说明: 在该碱度范围内, pH < 9.0 时, 对中国对虾幼虾存活率 24 h 内没有明显影响; pH > 9.0 时, 开始影响中国对虾幼虾的生存; 当 pH 从 9.2 增至 9.4 时, 对中国对虾幼虾存活率的影响十分显著。

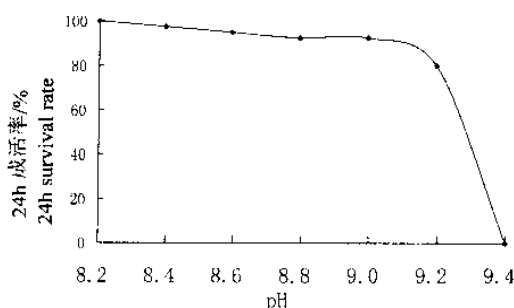


图 1 在同一碱度、不同 pH 下幼虾的成活率

Fig.1 Survival rate of *P. chinensis* larvae at different pH when alkalinity is (6.12 ± 0.98) mmol/L

2.2 碱度对中国对虾幼虾的急性毒性试验

同一 pH、不同碱度下对中国对虾幼虾 24 h 急性毒性试验结果见图 2。试验期间对照组对虾均表现为正常, 没有死亡。由图 2 可见, 在同一 pH 下, 随着碱度的升高, 对虾存活率下降。在 pH 8.6、9.0、9.3 和 9.5 系列中, pH 低时, 碱度对中国对虾的毒性作用缓慢, pH 高时, 毒性作用越来越大。

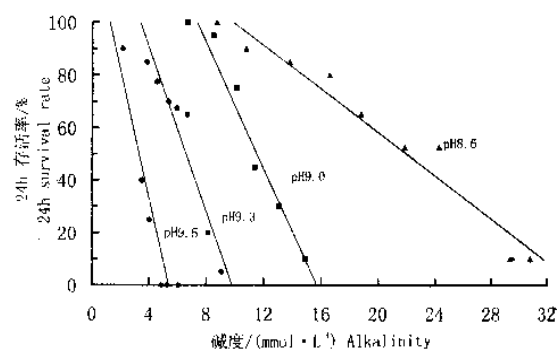


图 2 在同一 pH、不同碱度下幼虾的成活率

Fig.2 Survival rate of *P. chinensis* larvae at different alkalinity in different pH value group

随着 pH 的升高, 中国对虾幼虾对碱度的忍受力下降, 对虾的死亡速度加快, 死亡率急剧上升。在 pH 8.6 系列中, 最后 3 组的碱度分别为 24.30、29.31 和 30.75 mmol/L, 此 3 组的对虾长时间失去平衡后(18~24 h)逐渐死亡; 而 pH 9.5 系列各组碱度(2.14~6.04 mmol/L)均低于 pH 8.6 系列的第 1 组(8.78 mmol/L), pH 9.5 系列中各碱度组均有死亡, 第 4、5 组(碱度分别为 4.86 和 5.27 mmol/L)对虾放入后 8 h 死亡率在 80% 以上, 第 6 组(碱度 6.04 mmol/L)对虾放入后 4~6 h 全部死亡。

计算各 pH 系列中碱度对对虾存活率, 线性回归直线, 求出各 pH 系列的 24 h 存活率为 50% 时的碱度(LC₅₀)(表 2)。随着 pH 的升高, 各 pH 系列的 LC₅₀显著下降, 致毒作用增大。

表 2 不同 pH 下幼虾对碱度的 24 h LC₅₀

Table 2 Alkalinity 24 h LC₅₀ of *P. chinensis* larvae at different pH values

pH	8.6	9.0	9.3	9.5
LC ₅₀ 碱度/(mmol·L ⁻¹)	22.00	11.66	6.57	3.28
Alkalinity 24 h LC ₅₀				

各 pH 系列中碱度越高, 对虾越易受惊。即将死亡的对虾体色呈粉白色。各组虾多为先失平衡后再死亡, pH 8.6、9.0 系列对虾失去平衡较长时间才会死亡, 有的对虾失去平衡达 48 h 仍未死亡。将 pH 8.6 系列第 7、8、9 组中失去平衡多时(24~48 h)、体色发白的对虾 10 余尾放入正常海水和 pH 8.6 系列第 1 试验组中, 除 1 尾虾外, 其余虾在 10 min~1 h 内恢复平衡, 且体色也逐渐恢复正常。

3 讨论

3.1 碱度、Ca²⁺ 对幼虾毒性作用的主次关系

试验期间, 高 pH 或高碱度组有白色 CaCO₃ 沉淀生成, 试验结束时的水质分析发现试验水中 Ca²⁺ 浓度下降, 可以认为该沉淀为 CaCO₃。但 Ca²⁺ 浓度下降是否会影响中国对虾成活及其影响程度如何, 可从以下两点分析:

(1) 在不同 Ca²⁺ 浓度对中国对虾幼虾存活率的影响试验中^[7], 虽然随着 Ca²⁺ 浓度降低, 对虾的存活率下降, 但即使在不添加 Ca²⁺ 的人工配制海水中, 中国对虾幼虾 48 h 存活率仍在 35% 左右。图 3 显示了 pH 8.6 系列不同碱度下的 Ca²⁺ 浓度及 24 h 存活率, 碱度升高, Ca²⁺ 浓度下降, 最低在 0.205 mmol/L, 对虾存活率仅 10%, 远低于不添加 Ca²⁺ 组(48 h 存活率在 35% 左右)。这说明对虾致死的主要原因不可能是 Ca²⁺。

(2) 为了进一步分析碱度和 Ca²⁺ 对中国对虾幼虾的毒性作用, 以 pH 8.6 系列的碱度(X₁)和 Ca²⁺ 浓度(X₂)作为自变量, 存活率(Y)作为因变量进行二元线性回归。其线性回归曲线为:

$$Y = 157.178 - 4.621X_1 - 5.580X_2 \quad (1)$$

回归方程显著性检验 $F = 64.58 > F_{0.01}(2, 6)$

$= 10.92$, 相关系数 $R = 0.978 > R_{0.01} = 0.7977$ 。这说明碱度和 Ca²⁺ 对对虾存活率的影响有线性回归关系。但是, 对碱度和 Ca²⁺ 二因子的偏回归系数的显著性检验得出, $t_1(\text{碱度}) = 7.89 > t_{0.01}(6) = 3.707$, $t_2(\text{Ca}^{2+}) = 1.13 < t_{0.05}(6) = 2.447$, 由此可知, t_2 不显著, t_1 达极显著, 说明 Ca²⁺ 的影响不显著, 而碱度的影响极其显著。分析其它 pH 系列的碱度、Ca²⁺ 对对虾的 24 h 急性毒性作用, 其结果均与 pH 8.6 系列相似, 影响对虾成活的主要因子是碱度, 而不是 Ca²⁺。

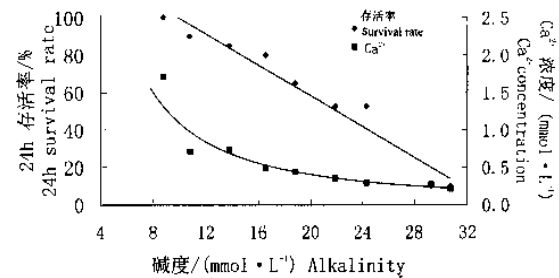


图 3 不同碱度下幼虾存活率与 Ca²⁺ 浓度的关系(pH 8.6)

Fig.3 Relationship between survival rate of *P. chinensis* larvae and Ca²⁺ concentration at different alkalinities (pH 8.6)

3.2 碱度和 pH 对幼虾毒性作用的主次

二氧化碳平衡系统(CO₃²⁻ - HCO₃⁻ - CO₂ 缓冲系统)是保持养殖水体 pH 稳定性的主要缓冲系统^[8]。该系统的 pH 取决于不同形式的二氧化碳(CO₃²⁻、HCO₃⁻、CO₂)比例。pH 在 8.3~12.0 之间, 该系统主要以 HCO₃⁻、CO₃²⁻ 形式存在, 在该范围内, pH 升高, CO₃²⁻ 浓度上升, HCO₃⁻ 浓度下降。雷衍之等^[3]认为碱度对鱼类毒性作用是一种综合致毒效应。分析本试验结果得出, 碱度对中国对虾存活率的影响与对鱼类的影响相似, 也可能是 HCO₃⁻、CO₃²⁻ 和 OH⁻ 的综合致毒效应, 并且在不同的 pH 区域, HCO₃⁻、CO₃²⁻ 和 OH⁻ 对对虾急性毒性作用的大小皆不同。由图 2 可见, 尽管 pH 9.5 系列所有试验组的碱度均低于 pH 8.6 系列的碱度, 但它们的毒性作用却相差很大。进一步分析各 pH 系列的碱度及其组成(HCO₃⁻、CO₃²⁻)对中国对虾幼虾急性毒性作用, 得出: pH 8.6~9.0 时, 影响对虾存活率的主要因子是 HCO₃⁻ + CO₃²⁻; pH 9.0~9.5 时, CO₃²⁻ 是影响对虾成活的主要因子, 并与 OH⁻

联合影响对虾成活;pH 9.5 以上时,OH⁻ 逐渐成为影响对虾成活的主要因子。

3.3 碱度对幼虾生理的影响

碳酸氢盐是血浆中最为重要的缓冲系统^[9]。外界环境中 CO₃²⁻、HCO₃⁻ 浓度的变化必将影响对虾体内血淋巴缓冲系统 pH 的变化。本试验发现,将失去平衡多时的幼虾放回正常海水中,幼虾能在短时间内恢复平衡。这有可能是由于外界环境的变化影响了虾体内酶的活性,幼虾放回正常海水中,其酶的活性又得以恢复,但幼虾对环境的忍耐是有极限的,环境变化过度会使酶失去活性,甚至损伤其组织,及碱性过强的水会腐蚀鳃组织^[7]。因对虾的循环系统为开放式,其血淋巴的 pH 变化同样会直接影响到其它组织,如肝脏等。而在对 pH 9.6 系列的幼虾肝胰脏组织切片中发现,部分肝小管解体。

3.4 高碱度、高 pH 对中国对虾生存的影响

对虾是海水养殖种类,养殖过程中,在水中藻类强烈光合作用下,白天养殖池水的 pH 会在短时间内高于 9.0,但由于海水中的碱度较低,故并不会因短时间的 pH 过高对中国对虾造成较大危害。然而我国西北内陆相当一部分盐碱水水域受地理、底质

等环境因子的影响,水中的 CO₃²⁻ 含量较高,使水体始终维持着较高的 pH。因此,中国对虾往西北内陆盐碱水域移植,高碱度、高 pH 则成为对虾移植的限制性因子之一。在移植工作中,应采取有力措施控制 pH 和碱度的升高,以利于对虾的生存和生长。

参考文献:

- [1] 张礼善. 青、草、鲢、鳙对氢离子浓度的生存适应性[J]. 水生生物学集刊, 1960(2): 134-144.
- [2] 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.
- [3] 雷衍之, 董双林, 沈成钢, 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.
- [4] 董双林, 堵南山, 赖伟. pH 值和 Ca²⁺ 浓度对日本沼虾生长和能量收支的影响[J]. 水产学报, 1994, 18(2): 118-123.
- [5] 湛江水产专科学校. 海洋饲料生物培养[M]. 北京: 农业出版社, 1980. 212.
- [6] 臧维玲. 养鱼水质分析[M]. 北京: 农业出版社, 1991. 36-44.
- [7] 王 慧, 房文红, 来琦芳. 水环境中 Ca²⁺、Mg²⁺ 对中国对虾生存及生长的影响[J]. 中国水产科学, 2000, 7(1): 82-86.
- [8] 湛江水产专科学校. 淡水养殖水化学[M]. 北京: 农业出版社, 1980. 43-52.
- [9] 王同明. 生物化学及检验技术[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1986. 196-204.

Toxicity of carbonate – alkalinity and pH to larval *Penaeus chinensis*

FANG Wen-hong, WANG Hui, LAI Qi-fang

(East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, Chian)

Abstract: Two experiment systems were designed: ① the alkalinity was steady at (6.12 ± 0.98) mmol/L, but the pH values were 8.2, 8.4, 8.6, 8.8, 9.0, 9.2 and 9.4, respectively; ② at the same pH levels, the alkalinity changed, i. e. there were 4 pH levels (8.6, 9.0, 9.3 and 9.5) designed and the alkalinity changed from 7.0 to 31.0, 6.0 to 16.0, 3.0 to 9.0 and 1.0 to 6.0, respectively. The results showed that the alkalinity and pH were interdependent in producing toxicity on the larvae. The survival rate of shrimp larvae fell with the increase of alkalinity and pH. While pH values were 8.6, 9.0, 9.3 and 9.5, the alkalinity 24 h LC₅₀ values to shrimp larvae were 22.00, 11.66, 6.57 and 3.28 mmol/L respectively. As pH value was between 8.6 and 9.0, HCO₃⁻ and CO₃²⁻ acted jointly on the survival of shrimp. As pH value was between 9.0 and 9.5, OH⁻ and CO₃²⁻ had a synergistic effect on survival of shrimp. When pH value exceeded 9.5, OH⁻ gradually became the major mortal factor.

Key words: *Penaeus chinensis*; larva; carbonate – alkalinity; pH; toxicity; survival rate