

长江口疏浚土悬浮物及其溶出 Zn²⁺ 对中华绒螯蟹产卵率和早期发育的影响*

王云龙 成永旭¹ 徐兆礼 陈亚瞿

(中国水产科学研究院长江口渔业生态重点实验室, 东海水产研究所, 上海 200090)
(1 上海水产大学, 上海 200090)

摘要 应用室内模拟实验方法, 对疏浚作业后长江口悬浮物和溶出 Zn²⁺ 对中华绒螯蟹产卵率和早期发育的影响进行了研究, 结果显示: 在疏浚作业所造成的极限底泥悬浮物浓度 8 g/L, 不会对中华绒螯蟹的交配、产卵和胚胎发育造成影响; 当环境水 Zn²⁺ 浓度超过 197.8 μg/L 时, 会对蚤状幼体的发育产生影响。

关键词 长江, 河口, 悬浮物, Zn²⁺, 中华绒螯蟹, 早期发育

长江口的深水航道疏浚工程引起了悬浮物增加和泥沙中重金属的溶出, 从而有可能对长江口广大区域的中华绒螯蟹资源造成一定影响。本研究应用室内模拟实验方法, 探索疏浚作业后长江口悬浮物和溶出 Zn²⁺ 对中华绒螯蟹产卵、胚胎发育和幼体发育的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 亲蟹 亲蟹于 1999 年 3 月 24 日购于崇明县, 共 32 只, 22 只雌蟹, 9 只雄蟹。

1.1.2 悬浮物 系由长江口深水航道工程建设单位提供。

1.1.3 Zn²⁺ 试液 长江口疏浚作业致使沉积物中重金属 Zn 大量溶出, 水中 Zn²⁺ 含量增加。本实验按照 Zn²⁺ 最大溶出范围, 在基准纯净海水中 (Zn²⁺ 浓度为 31.8 μg/L) 添加分析纯 ZnSO₄, 配制成 Zn²⁺ 海水溶液, 浓度分别为 31.8, 121.8, 197.8, 339.8, 601.8, 1 031.8 μg/L。

1.2 实验方法

1.2.1 亲蟹的交配产卵 实验设 2 个对照组。A

组: 将 12 只雌蟹和 5 只雄蟹放入 2 m × 1 m × 1.2 m 的塑料水箱中, 水箱中按 8 g/L (疏浚作用最大悬浮物浓度) 浓度装入悬浮物, 盐度为 14。B 组: 将 10 只雌蟹和 4 只雄蟹放入另 1 水箱, 水箱中是盐度为 14 的纯净海水。每天观察各箱蟹的交配产卵情况, 及时取出抱卵蟹进行下述胚胎发育观察实验, 实验期间 24 h 充气增氧, 特别是悬浮物组, 保证一定量的充气, 使泥土颗粒悬浮。

1.2.2 胚胎发育的观察 将 A 组和 B 组的抱卵蟹各取出 4 只, 分别移入 0.6 m × 0.7 m × 0.5 m 的 2 个玻璃水箱中, 箱中为盐度 17 的海水, 其中各抱卵蟹分别放入不同蟹笼中。从抱卵的第 1 d 开始, 每隔 4 d 检查抱卵蟹胚胎发育情况, 包括发育的分期及胚胎成活情况、卵的大小等。卵的发育分期参照堵南山等^[1,2], 卵的成活与死亡数在解剖镜下检查, 每次检查 20 只卵, 每个样品检查 3 次, 计算平均成活和死亡数。卵裂期以前死亡率依据卵的渗透性不同, 用色素进行染色渗透, 然后再冲洗干净。被色素着色较重的为死亡卵(因失去渗透调节能力), 不过染色时要注意染色液的颜色和浓度及染色的时间。原肠期以后卵的死亡可根据卵的颜色是否有透明区准确判定。卵的大小在显微镜下用目微尺测定。胚胎发育期间为室温, 在 16~20℃。

收稿日期: 1999-09-15

* 农业部重点科研项目(95-B-96-10-01-0)

1.2.3 Zn²⁺ 对中华绒螯蟹幼体发育的影响 蚕Ⅰ幼体取刚刚孵出的幼体。蚕Ⅳ和大眼幼体取自上海市奉贤柘林东海水产研究所育苗场。实验期间除蚕Ⅰ蚕Ⅱ不投饵以外,其它都保证幼体充足的饵料。蚕Ⅳ和大眼幼体均投喂丰年虫无节幼体,实验全部在100 ml的小烧杯中进行,每个浓度组设4~5个重复组,每组放10~15只幼体,实验用幼体只选择活力好,常在容器水体表面游泳的个体,蚕Ⅳ和大眼幼体因投饵,每天定期换相应Zn²⁺浓度的海水。定期按2、4、8、16、24、48、72、96 h 观察幼体的死亡情况,大眼幼体观察至变态。

2 结果与讨论

2.1 悬浮物的影响

2.1.1 对中华绒螯蟹产卵的影响 表1显示悬浮物不影响河蟹的正常交配和产卵。也不影响亲蟹的成活率(100%),这与Clarke等^[2]对蟹(*Chioneocetes bairdi*)的研究结果相同。

表1 悬浮物对中华绒螯蟹产卵的影响(3月24日~4月12日)

Table 1 Effects of suspended sediment on spawning of Chinese crab (Mar 24~Apr 12)

	抱卵数 egg - bearing crabs	抱卵率/% bearing rate	非正常抱 卵(抱卵板) onfew - egg bearing crabs	未抱卵 no - egg - bearing crabs
悬浮物 A suspension	8	75	2	2
纯净海水 pure seawater	7	77.8	1	2

对中华绒螯蟹胚胎发育的影响从表2中可以看出,悬浮物对中华绒螯蟹的胚胎发育与对照组相比在原肠期以前,胚胎成活率几乎为100%,无显著差异。Clarke^[2]证实,在原肠期以前,卵膜的通透性较强,外界物质较易透过卵膜进入卵中,因此,是胚胎发育易受外界影响的敏感期,本实验证实,悬浮物在这一时期并不影响胚胎的正常发育和成活。从物理效应来讲,由于卵完全包裹在腹脐中,悬浮颗粒不会对卵造成机械损伤,所以只要溶氧,盐度等生态条件适合,不会影响卵的发育。但当胚胎发育至色素形成期,会有一定程度的死亡,如在悬浮物4号蟹有60%~70%的死亡。因为在色素形成阶段,正是器官分化和充分发育时期,卵黄营养物质大量消耗,是胚胎发育最旺盛的时期^[4],由于某些卵在成熟时卵黄物质的积累不够,不足以满足卵胚胎发育的需求而导致死亡,若卵的成熟度比较好,比如悬浮物1和3号蟹,绝大部分都能正常发育并孵出幼体。总之,对于能正常孵出幼体的抱卵蟹,对照组与实验组在胚胎发育各期的成活率都无显著差异(表2)。

对照组与悬浮物组中都有1只蟹在发育后期死亡。它们的共同特点是前期卵的发育都比较好,亲蟹规格比较大,为150 g左右,而且死亡都发生于胚胎心脏跳动以后,这种情况在实际生产上也较为常见,在其它蟹中也有类似的情况^[5],具体原因不明。实验中还发现,对照组抱卵蟹在抱卵期间,与悬浮物组(水底有少部分悬浮物沉积)相比,脱卵情况比较严重,所以发育到最后,抱卵量大都仅有原抱卵量的2/3左右。

表2 悬浮物对中华绒螯蟹胚胎发育的影响(4月12日~5月13日)

Table 2 Effects of suspended sediment on the embryonic development of Chinese crab (Apr 12~May 13)

	卵裂期 cleavage stage		原肠前期 archenteron prophase		色素期 pigment stage		孵化情况 hatching
	成活率/% survival rate	卵规格/ μm egg size	成活率/% survival rate	卵规格/ μm egg size	死亡率/% mortality	卵规格/ μm egg size	
悬浮物抱卵蟹情况 egg - bearing crabs in suspension water	100	300×360	98.4	330×350	16~20	350×380	正常孵出 normal
	100	310×380	97.5	340×380	100		
	100	320×380	100	360×440	5~10	460×480	正常孵出 normal
	100	320×380	100	340×350	60~70	420×400	孵出苗很少 few
对照组 control	100	300×360	100	350×380	6~8	420×400	正常孵出 normal
	100	310×350	100	350×400	5~10	380×400	正常孵出 normal
	100	320×380	100	360×400	6~8	410×420	死亡 dead
	100	310×350	100	360×360	3~6	380×380	正常孵出 normal

2.2 Zn²⁺ 对中华绒螯蟹幼体发育的影响

2.2.1 对蚕Ⅰ的毒性实验

从表3中可以看出,重

金属Zn对蚕Ⅰ发育影响较明显,如将Ⅰ期蚕暴露于不同浓度的Zn²⁺海水中24~48 h,方差分析结果(*P*

<0.01) 显示各组间存在显著差异, 尤其当 Zn^{2+} 浓度在 $197.8 \mu\text{g}/\text{L}$ 时蚤 I 48 h 死亡率都平均在 30 %

表 3 蚤状 I 在不同 Zn^{2+} 浓度中的死亡率*

Table 3 Mortality rate of zoea I at different Zn^{2+} concentrations (n=5)

时间/h time/h	Zn^{2+} 浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$						P
	31.88**	121.8	197.8	339.8	601.8	1 031.8	
2~4	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	6.0±5.5	8.0±11.0	8.0±8.3	4.0±5.5	>0.05
16	0	0	10.0±10.0	12.0±8.4	12.0±13.0	8.0±8.4	>0.05
24	0 ^a	0 ^a	24.0±11.4 ^b	18.0±8.4 ^b	16.0±11.4 ^b	12.0±8.4 ^b	<0.01
48	0±0 ^a	6.0±5.5 ^a	32.0±11 ^b	32±8.4 ^b	30±7.1 ^b	28.2±8.4 ^b	<0.01

* 每组有 10 只幼体, 各组间不同上标表示存在显著差异($P<0.01$)。Each group has 10 zoea I. The different superscript letters mean significantly different.

** 对照组 Control.

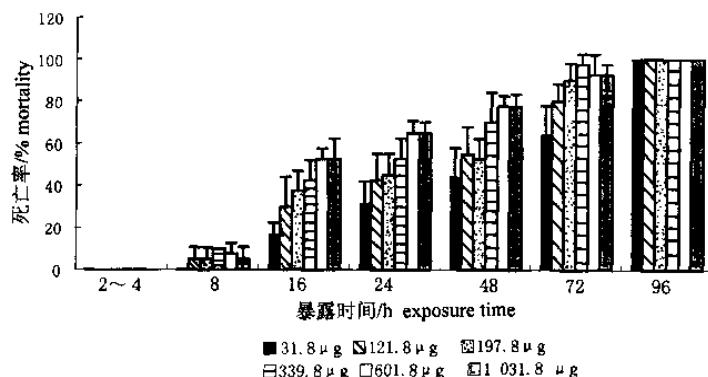


图 1 不同 Zn^{2+} 浓度对中华绒螯蟹蚤 II 期幼体发育的影响

Fig.1 Effects of different concentration of Zn^{2+} on development of zoea II of Chinese crab

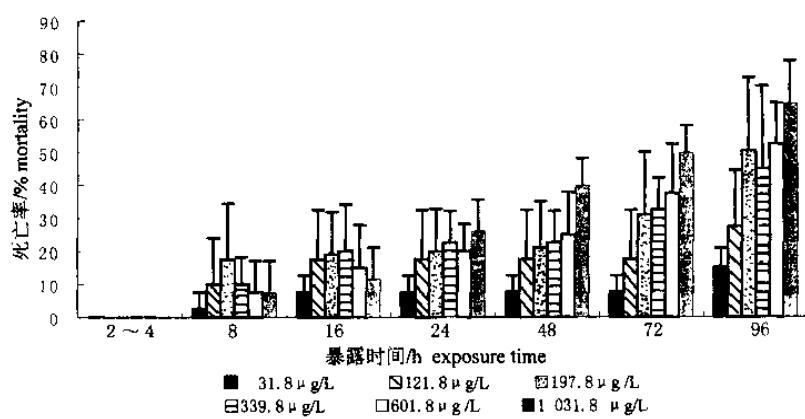


图 2 不同 Zn^{2+} 离子浓度对中华绒螯蟹蚤 IV 幼体发育的影响

Fig.2 Effects of different concentration of Zn^{2+} on development of zoea IV of Chinese crab

2.2.2 对蚤 II 和蚤 IV 幼体发育的影响 如图 1 所示, 蚤 II 暴露于不同浓度的 Zn^{2+} 海水中 16 h 后, 实

验组幼体开始有较多死亡, 方差分析结果显示, 当 Zn^{2+} 浓度在 $197.8 \mu\text{g}/\text{L}$ 以上时, 各组间幼体死亡率

与对照组相比都存在显著差异($P < 0.01$)。且各实验组都有一半个体死亡;随着 Zn²⁺ 浓度的升高,48 h 绝大部分死亡,至 96 h,包括对照组在内,全部死亡。但对于蚤 IV 幼体(图 2),实验组直到 48 h 才开始有较多死亡,方差分析也显示,当 Zn²⁺ 浓度在 197.8 μg/L 以上时,各组间幼体死亡率与对照组相

比都存在显著差异($P < 0.01$)。所以蚤 II 与蚤 IV 相比,由锌引起幼体死亡的时间较早,说明其解毒的能力比后者弱。对照组的死亡可能是由于饥饿、变态等所致,实验组中 Zn²⁺ 则加快了这种死亡的过程,这也说明 Zn²⁺ 对幼体的正常存活有显著影响。

2.2.3 对大眼幼体发育和变态的影响 见表 4。

表 4 大眼幼体在不同 Zn²⁺ 浓度中的死亡率、变态率和成活率*

Table 4 Effects of Zn²⁺ on development of Chinese crab megalopa

(n=4)

Zn ²⁺ 浓度/ (μg·L ⁻¹)	concentration	死亡率 mortality							变态率 metamorphic rate	成活率 survival rate
		2~48 h	72 h	96 h	120 h	144 h	168 h	192 h		
31.8	0	16.67±6.7	18.3±8.4	23.3±6.7	40.0±0.0	50.0±3.8	53.3±5.4	35.5±6.4	46.7±5.4	
(对照组 control)										
121.8	0	8.3±6.4	13.3±5.4	21.7±6.4	35.0±11.4	45.0±10.0	51.7±6.4	30.0±8.2	48.3±6.4	
197.8	0	13.3±5.4	15.0±3.3	21.7±8.4	40.0±5.4	50.0±8.6	56.7±16.8	20.0±5.5	33.3±16.8	
339.8	0	13.3±5.4	15.0±6.4	20.0±9.4	30.0±11.5	43.3±8.6	53.3±14.4	31.7±6.4	36.7±14.4	
601.8	0	15.0±6.4	16.7±6.7	20.0±5.4	35.05±6.4	38.8±10.0	45.0±10.0	31.7±6.4	55.0±10.0	
1031.8	0	10.0±8.6	13.3±7.7	16.7±8.6	25.0±6.4	35.0±6.4	38.3±8.4	28.3±6.4	61.7±8.4	
P		0.564	0.871	0.871	0.100	0.100	0.235			

* 每组有 15 只幼体,各组间无显著差异($P > 0.05$)。Each group has 15 megalopas. There is no significant difference between groups.

从表 4 中可以看出,在本实验条件下,Zn²⁺ 对大眼幼体的发育成活和变态均无显著影响。这一点和上述蚤状幼体的实验结果明显不同。这说明幼体对 Zn²⁺ 的敏感性与幼体的发育阶段有关,后期发育的幼体,特别是大眼幼体对 Zn²⁺ 毒性的抗性较强。一般来讲,Cu²⁺、Zn²⁺、Cd²⁺ 对甲壳动物毒性作用是通过在肝胰腺或中肠细胞中大量的积累而致。对于甲壳动物蚤状幼体来讲,胰腺的发育尚处于初期阶段,仅为三叶状的盲管,肝胰腺的解毒作用较弱,极易引起肝胰腺细胞破坏,影响幼体的消耗吸收,低浓度时可能造成幼体发育的减缓,急性实验短时间内会引起大量死亡,如本实验中当 Zn²⁺ 浓度超过 197.8 μg/L 时,蚤 II 和 IV 分别在 16 和 24 h 内开始大量死亡。还应注意的是,在 Zn²⁺ 197.8 μg/L 以上时,蚤 I 幼体大量死亡的时间是在 48 h 以后,比蚤 II 和蚤 IV 死亡的时间推迟 32 和 24 h,说明蚤 I 对重金属毒性的抗性较后两者强,这可能是由于蚤 I 的渗透调节能力较强,相对于后期蚤状幼体更能适应低盐度环境^[6],所以重金属较难被吸收进入肝胰腺。对于大眼幼体来讲,①由于此阶段口器(大颚小颚和其它 6 对颚足)和消化道发育基本完全,代谢旺盛,肝胰腺的解毒能力增强;②在重金属中,Zn²⁺ 对水生生物的毒性一般较 Cu²⁺、Hg²⁺、Cd²⁺、Pb²⁺ 小^[7],比如对于 Cu²⁺、Zn²⁺、Cd²⁺ 对锯缘青蟹各期

幼体(蚤状幼体 I ~ V 期和大眼幼体)的 24 h - LC₅₀、48 h - LC₅₀、96 h - LC₅₀ 测定结果表明:金属的毒性为 Cu²⁺ > Cd²⁺ > Zn²⁺ (未发表),对丰年虫无节幼体的毒性实验表明:不同物质的毒性(24 h - LC₅₀ mg/L)依次为 Cu²⁺ (10) > As³⁺ (15) > Hg²⁺ (80) > Cd²⁺ (171) > Zn²⁺ (3 680)^[8]。锌离子毒性较弱的原因可能是因为锌是金属酶的辅助因子,能够防止其它金属的毒性作用,在一定范围利于对机体生长;③大眼幼体的渗透调节能力大大增加,可适应盐度 0~30 的海水,这样的渗透应力会更加有效的阻滞对重金属的吸收,这点尚需从细胞学研究上进一步证实。综上所述,可以说明河蟹大眼幼体对 Zn²⁺ 的抗性作用,甚至当环境 Zn²⁺ 浓度超过 1 000 μg/L 时,也不影响其生长、存活和变态。

3 结论

(1) 在疏浚作业时所造成的极限底泥悬浮物浓度 8 g/L,不会影响中华绒螯蟹的交配、产卵和胚胎发育。

(2) 当环境 Zn²⁺ 浓度超过 197.8 μg/L 时,蚤状幼体阶段的发育会受到影响。

参 考 文 献

1 塘南山,赵云龙,赖伟. 中华绒螯蟹胚胎发育的研究. 见: 甲壳动

- 物论文集(3), 1992, 128~135
- 2 成永旭, 塘南山, 赖伟. 中华绒螯蟹胚胎不同发育阶段脂类及脂肪酸组成的变化. 华东师范大学学报(自然科学版), 动物学专辑: 1998, 32~36
- 3 Clarke A, J H Brown, L J Holmes. The biochemical composition of eggs from *Macrobrachium rosenbergii* in relation to embryonic development. *Comp Biochem Physiol*, 1990, 96B: 505~511
- 4 Hilsinger JR. Aspects of the reproductive biology of female snow crabs, *Chionicetes bairdi*, from Prince William Sound and the adjacent Gulf of Alaska. *Mar Sci Commun*, 1976, 2: 201~205
- 5 Lyon R, K Simkiss. The ultrastructure and metal-containing inclusions of mature cell type, in the hepatopancreas of a crayfish. *Tissue and Cell*, 1984, 16: 805~817
- 6 Anger W. Effects of temperature and salinity on the larval development of the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*. *Mar Ecol Prog Ser*, 1991, 72: 103~110
- 7 Connor P M. Acute toxicity of heavy metals to some marine larvae. Substratum oviposition cementation. *Mar Pollut Bull*, 1972, 3: 190~192
- 8 Chen B. Toxicology, biochemistry and ultrastructures study of heavy metals in *Artemia franciscana*. Dissertation of doctor of philosophy. USF. USA. 1996

Effects of suspended dredging sediment and its dissolved Zn²⁺ on the spawn and early development of Chinese crab *Eriocheir sinensis* in the Changjiang estuary

Wang Yunlong Cheng Yongxu¹ Xu Zhaoli Chen Yaqu

(East China Sea Fisheries Research Institute, Key Lab of Fisheries Ecology of Changjiang River Estuary, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090)

(1 Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090)

Abstract Dredging sediment in the Changjiang estuary, which has resulted in fine sediment suspending, may have effects on the larval development of Chinese crab *Eriocheir sinensis*. On the other hand, sediment suspending may increase metal concentrations, especially Zn²⁺ in the estuarine environment and imperil marine life, such as the larval *Eriocheir sinensis*. This study showed that there were no significant differences in the spawn, egg survival, larval hatching and embryonic development of Chinese crab after exposure to the highest concentration(8 g/L) suspending sediment and control environment. The result of the toxicity of Zn²⁺ to larvae demonstrated that after 24 h or 36 h exposure in the assay medium of Zn²⁺, especially the concentration of Zn²⁺ over 197.8 μg/L, the high mortality of larvae at different stages (zoea I, zoea II and zoea IV) was found, which demonstrated the toxicity of Zn²⁺ to the early larvae.

Key words Changjiang River, estuary, suspended dredging sediment, Zn²⁺, *Eriocheir sinensis*, early development