

文章编号: 1004 - 7271(2007)01 - 0022 - 06

氨氮和硫化氢对日本对虾幼体的毒性影响

李 建¹, 姜令绪¹, 王文琪¹, 杨 宁¹, 王仁杰¹, 隋义先²

(1. 莱阳农学院水产学院 山东 青岛 266109;
2. 山东省乳山市对虾养殖场 山东 威海 264512)

摘 要:本文主要研究了氨氮和硫化氢对日本对虾(*Penaeus japonicus* BATE)幼体的毒性作用。浓度梯度按等对数间距设置,半致死浓度采用直线内插法进行计算。实验结果表明:氨氮和硫化氢对日本对虾幼体的毒性作用显著($F > F_{0.05}$),随着浓度的增加,各期幼体的死亡率明显升高;对各期幼体表现出不同程度的毒性作用,无节幼体对两种毒性物质的耐受性强于蚤状幼体,但是小于糠虾幼体和仔虾的耐受性。氨氮和硫化氢对日本对虾蚤状幼体、糠虾幼体和仔虾的安全浓度分别为:0.295,0.043 0;0.724,0.055 3;1.072,0.070 5 mg/L。

关键词:氨氮;硫化氢;日本对虾;半致死浓度;安全浓度

中图分类号:S 954.1 文献标识码:A

The toxic effect of ammonia nitrogen and sulfurated hydrogen on the larvae of *Penaeus japonicus*

LI Jian¹, JIANG Ling-Xu¹, WANG Wen-Qi¹, YANG Ning¹, WANG Ren-Jie¹, SUI Yi-Xian²

(1. Laiyang Agriculture College, Aquaculture College, Shandong Qingdao 266109, China;
2. Rushan Prawn Aquafarm, Weihai 264512, China)

Abstract: This paper studied the effect of ammonia nitrogen and sulfurated hydrogen on the larvae of *penaeus japonicus*. The grades were designed by equal space between logarithm, and the median lethal concentration was computed by Linear Regression. The results showed that ammonia nitrogen and sulfurated hydrogen had a notable toxic effect on the larvae of *penaeus japonicus* ($F > F_{0.05}$), and the mortality rate of larvae increased significantly with the concentration. The endurance to two toxicants in all larvae stages was different, and the endurance of the nauplius was better than that of the zoea larvae and less than that of the mysis larvae and postlarvae. The safety concentration of ammonia nitrogen on the zoea larvae, mysis larvae and postlarvae was 0.295 mg/L, 0.724 mg/L, 1.072 mg/L respectively, and that of sulfurated hydrogen was 0.043 0 mg/L, 0.055 3 mg/L, 0.070 5 mg/L.

Key words: ammonia nitrogen; sulfurated hydrogen; *Penaeus japonicus*; median lethal concentration; safety concentration

氨氮和硫化氢是对虾育苗水体中最普遍的有害物质。氨氮是对虾的排泄物,也是对虾残饵、粪便以及动植物尸体等含氮有机物分解的终产物,硫化氢则是由于含硫有机物在缺氧条件下,由厌氧细菌分解

收稿日期:2006-06-28

基金项目:教育部重点科技项目(02060)

作者简介:李 建(1969-),男,主要从事水产动物增殖学研究。Tel:0532-86080561,E-mail:chzhzzr@163.com

通讯作者:姜令绪,E-mail:jianglx_0121@hotmail.com

形成。水体中的氨氮和硫化氢浓度会随着育苗的进行而逐渐升高,当氨氮或者硫化氢超过某一临界值时,会导致对虾幼体或者仔虾出现大量死亡现象。据毕英佐^[1]等报道,随着育苗的进行,水体中的氨氮浓度逐渐升高,最高时可达 6.248 mg/L,并且当氨氮浓度超过 4.023 mg/L 时,罗氏沼虾出现大量死亡。Chen^[2,3]等研究指出,氨氮对对虾具有毒性作用,而且能够影响到对虾的生长和变态发育。臧维玲^[4]和姚庆祯^[5]等已经研究了氨氮对罗氏沼虾、凡纳滨对虾和日本对虾幼体的毒性作用。但是,有关氨氮和硫化氢对日本对虾各期幼体毒性作用的系统研究尚未见报道。因此,本文研究了氨氮和硫化氢对日本对虾各期幼体的毒性作用,以为合理调控对虾育苗的水质条件提供了科学的依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验于 2006 年 4 月至 2006 年 6 月在乳山市对虾养殖场进行。实验所用日本对虾各期幼体为该厂育苗过程中培育的幼体,每次实验均选择健康无病、活力强、规格一致的幼体进行。实验所用海水为经沉淀、过滤和消毒的自然海水,盐度为 32.5, pH 为 8.0,水温通过水浴控制在 (25 ± 0.5) °C。实验期间不充气,投喂螺旋藻粉、轮虫和卤虫幼体,并及时吸出残饵和死亡个体。

1.2 实验方法

1.2.1 浓度梯度设置

日本对虾幼体的毒性实验按等对数间距设置,各期幼体氨氮浓度用氯化氨溶液调控,每 24 h 换水一次,梯度设置如表 1 所示,硫化氢浓度用硫化钠溶液调控,每 6 h 换水一次,梯度设置如表 3 所示。实验在 500 mL 的玻璃烧杯中进行,同一个实验的所有烧杯均放置于一个水浴槽中进行控温,无节幼体实验每个烧杯放置幼体 100 尾,其它各期幼体的实验每个烧杯放置幼体 40 尾,每个实验梯度均设置 3 个平行组。

1.2.2 测定方法

毒性实验中,每 24 h 准确记录死亡个体数目,实验结束后以直线内插法^[6]求出氨氮和硫化氢对日本对虾各期幼体的半致死浓度(LC₅₀),并按下式求出其安全浓度(Cs):

$$C_s = 0.1 \times 96 \text{ h LC}_{50}$$

分子氨氮(NH₃ - N_m)在总氨氮(NH₃ - N_t)中所占的比例与 pH、水温和盐度有关,NH₃ - N_m 在 NH₃ - N_t 中占的百分数可按式^[7]求出:

$$\text{pKa}^{S,T} = 9.24 + 0.003091S + 0.0324(298 - T)$$

$$\text{NH}_3 - \text{N}_m (\%) = 100 / (1 + 10^{(\text{pKa}^{S,T} - \text{pH})})$$

式中:T 表示绝对温度(T = 273 °C + t),t 为摄氏温度;S 代表盐度;pKa^{S,T} 为电离常数。

分子型硫化氢(H₂S)在总硫化氢(CH₂S)中所占的比例与 pH 和水温有关,H₂S 在 CH₂S 中占的百分数可按式^[8]求出:[H₂S] (%) = [H⁺]² / ([H⁺]² + [H⁺]ka₁ + ka₁ × ka₂) 式中:ka₁ 和 ka₂ 分别表示某温度下 H₂S = H⁺ + HS⁻ 和 HS⁻ = H⁺ + S²⁻ 的电离常数。

1.2.3 统计分析

实验数据以 3 个平行组数据的平均值表示;所有数据分析均采用单因素方差分析(ANOVA)。

2 结果

2.1 氨氮对日本对虾幼体的毒性影响

表 1 显示了氨氮对日本对虾各期幼体死亡率的影响。无节幼体在实验进行到 48 h 时大部分变态为蚤状幼体,因此实验只持续了 48 h,其它各期幼体在 96 h 内未出现变态现象。实验结果表明,随着氨氮浓度的升高和毒性作用时间的延长,各期幼体的死亡率均呈现升高趋势。

表 1 氨氮对日本对虾各期幼体的死亡率的影响

Tab.1 Effect of ammonia nitrogen on the mortality rate of *P. japonicus* larvae

幼体分期	氨氮浓度 (mg/L)	死亡率 (%)			
		24 h	48 h	72 h	96 h
N	2.00	0	0	-	-
	3.16	0	1	-	-
	5.01	3	15	-	-
	7.94	16	29	-	-
	12.59	27	51	-	-
	19.95	38	90	-	-
Z	3.16	0	3	33	53
	5.01	5	13	40	60
	7.94	10	18	63	75
	12.59	23	53	83	100
	19.95	75	100	100	100
	31.62	100	100	100	100
M	5.01	0	7	17	30
	7.08	0	10	23	50
	10.00	0	17	30	60
	14.13	7	30	47	77
	19.95	13	40	87	100
	28.18	17	90	100	100
P	39.81	73	100	100	100
	7.08	0	7	17	30
	10.00	0	10	23	50
	14.13	0	17	30	60
	19.95	7	30	47	77
	28.18	13	40	87	100
	39.81	17	90	100	100
	56.23	73	100	100	100

注:表中 N、Z、M、P 分别表示日本对虾的无节幼体、蚤状幼体、糠虾幼体和仔虾。

由表 2 可以看出,氨氮对日本对虾各期幼体 24 h 的半致死浓度从小到大依次为蚤状幼体 < 无节幼体 < 糠虾幼体 < 仔虾,48 h、72 h 和 96 h 时的半致死浓度均表现为随着幼体的变态发育逐渐增大;对于同期幼体,随着毒性作用时间的延长,半致死浓度逐渐减小,且差异显著 ($F > F_{0.05}$)。

表 2 氨氮对日本对虾各期幼体的半致死浓度和安全浓度

Tab.2 Effect of ammonia nitrogen on median lethal concentration and safety concentration of *P. japonicus* larvae

幼体分期	半致死浓度 (LC ₅₀) mg/L				安全浓度 (Sc) mg/L	
	24 h	48 h	72 h	96 h	NH ₃ - N ₁	NH ₃ - N _m
N	23.44	10.72	-	-	-	-
Z	15.85	13.18	5.50	2.95	0.295	0.013
M	35.48	17.38	11.75	7.24	0.724	0.033
P	50.12	24.55	16.60	10.72	1.072	0.049

注:表中 N、Z、M、P 分别表示日本对虾的无节幼体、蚤状幼体、糠虾幼体和仔虾。

2.2 硫化氢对日本对虾幼体的毒性影响

表 3 显示了硫化氢对日本对虾各期幼体死亡率的影响。无节幼体在实验进行到 48 h 后大部分才变态为蚤状幼体,因此实验只持续了 48 h,其它各期幼体在 96 h 内未出现变态现象。实验结果表明,随着硫化氢浓度的升高和毒性作用时间的延长,各期幼体的死亡率均呈现升高趋势。

表 3 硫化氢对日本对虾各期幼体的死亡率的影响
 Tab. 3 Effect of sulfureted hydrogen on the mortality rate of *P. japonicus* larvae

幼体分期	硫化氢度 (mg/L)	死亡率 (%)			
		24 h	48 h	72 h	96 h
N	0.199 5	0	6	-	-
	0.316 2	6	11	-	-
	0.501 2	8	21	-	-
	0.794 3	19	44	-	-
	1.258 9	37	67	-	-
Z	1.995 3	51	87	-	-
	0.199 5	3	4	4	25
	0.266 1	4	6	11	30
	0.354 8	5	8	16	36
	0.473 2	19	28	34	49
M	0.631 0	26	40	45	65
	0.841 4	44	60	64	81
	1.122 0	71	100	100	100
	0.199 5	0	8	15	25
	0.281 8	0	8	18	27
P	0.398 1	2	12	20	40
	0.562 3	5	15	37	45
	0.794 3	8	18	52	58
	1.122 0	27	43	68	70
	1.584 9	38	75	82	85
	0.1995	0	2	5	7
	0.290 1	0	7	13	15
	0.421 7	3	10	18	33
	0.613 1	5	15	27	43
	0.891 3	17	27	35	53
	1.295 7	22	38	47	72
	1.883 6	48	67	78	91

注:表中 N、Z、M、P 分别表示日本对虾的无节幼体、蚤状幼体、糠虾幼体和仔虾。

由表 4 可以看出,硫化氢对日本对虾各期幼体 24 h 和 48 h 的半致死浓度从小到大依次为蚤状幼体 < 无节幼体 < 糠虾幼体 < 仔虾,72 h 和 96 h 时的半致死浓度均表现为随着幼体的变态发育逐渐增大;对于同期幼体,随着毒性作用时间的延长,半致死浓度逐渐减小,且差异显著 ($F > F_{0.05}$)。

表 4 硫化氢对日本对虾各期幼体的半致死浓度和安全浓度

Tab. 4 Effect of sulfureted hydrogen on median lethal concentration and safety concentration of *P. japonicus* larvae

幼体分期	半致死浓度 (LC ₅₀) mg/L				安全浓度 (Sc) mg/L	
	24 h	48 h	72 h	96 h	CH ₂ S	H ₂ S
N	1.952 4	0.856 6	-	-	-	-
Z	0.897 6	0.748 8	0.664 1	0.429 9	0.043 0	0.003 2
M	1.997 2	1.307 1	0.718 1	0.552 5	0.055 3	0.004 4
P	2.135 6	1.513 9	1.125 1	0.704 9	0.070 5	0.005 6

注:表中 N、Z、M、P 分别表示日本对虾的无节幼体、蚤状幼体、糠虾幼体和仔虾。

3 讨论

3.1 氨氮对日本对虾幼体的毒性作用

氨氮是对虾的排泄物,也是对虾残饵、粪便以及动植物尸体等含氮有机物分解的终产物,在水体中以离子氨(NH₄⁺)和非离子氨(NH₃)两种形态存在,其中非离子氨因为不带电荷,具有较强的脂溶性,

能够穿透细胞膜,而表现出毒性效应。本研究结果显示,随着氨氮浓度的升高,日本对虾各期幼体死亡率明显增加,而且各氨氮浓度下,随着中毒时间的延长,幼体死亡率也呈现升高趋势。由此可见,毒性效应与氨氮浓度和中毒时间呈正相关。许多研究表明^[2,4,5,9,10],对虾幼体的死亡率都随着氨氮浓度的升高和中毒时间的延长而逐渐增加。

本实验结果还显示,不同时期的幼体对氨氮的耐受性不同,各期幼体 24 h 的半致死浓度从小到大依次为蚤状幼体、无节幼体、糠虾幼体和仔虾,48 h、72 h 和 96 h 时的半致死浓度均表现为随着幼体的变态发育逐渐增大。据姚庆祯^[5]等研究,日本对虾幼体从蚤状幼体到糠虾幼体再到仔虾,其对氨氮的耐受性逐渐增强。这与本实验结果具有一致性,说明从蚤状幼体开始,随着个体的变态发育对氨氮的耐受性增强。另外,本实验中无节幼体和蚤状幼体 24 h 的半致死浓度分别为 23.44 mg/L 和 15.85 mg/L,48 h 的半致死浓度分别为 10.72 mg/L 和 13.18 mg/L。作者认为,日本对虾无节幼体对氨氮的耐受性要强于蚤状幼体,之所以在 48 h 时半致死浓度率低于蚤状幼体,主要是因为第 48 h 时,无节幼体大部分已经变态为蚤状幼体,而变态蜕皮期间,幼体体质较弱,因而更容易死亡。据黄加祺^[11]报道,水质变坏容易引起对虾的蜕皮和死亡。作者推测,无节幼体对氨氮耐受性较强可能是因为对虾无节幼体期间不摄食,其染毒途径少于蚤状幼体,因此中毒相对缓慢。

3.2 硫化氢对日本对虾幼体的毒性作用

硫化氢是由于含硫有机物在缺氧条件下,由厌氧细菌分解形成,在水体中以分子形式的硫化氢(H_2S)、硫氢根(HS^-)和硫离子(S^{2-})三种形态存在,其中硫化氢和硫氢根能够作用于蛋白质结构中的巯基基团,形成共价结合键,抑制蛋白质的作用,从而表现出毒性作用。本实验结果显示,硫化氢对日本对虾幼体的毒性效用与氨氮表现出相似的变化趋势,随着硫化氢浓度的升高,日本对虾各期幼体死亡率明显增加,而且各硫化氢浓度下,随着中毒时间的延长,幼体死亡率也呈现升高趋势。目前有关硫化氢对日本对虾幼体毒性影响的研究尚未见报道。石俊艳^[12]等研究指出,河蟹幼体随着硫化氢浓度的升高和中毒时间的延长,死亡率明显升高。这与本实验结果具有一致性,说明毒性效应与硫化氢浓度和中毒时间也呈正相关。

由表 4 可以看出,硫化氢对日本对虾各期幼体 24 h 和 48 h 的半致死浓度从小到大依次为蚤状幼体 < 无节幼体 < 糠虾幼体 < 仔虾,72 h 和 96 h 时的半致死浓度均表现为随着幼体的变态发育逐渐增大。这与本实验中氨氮对日本对虾幼体毒性影响的结果一致,即蚤状幼体是日本对虾幼体阶段最弱的阶段。

3.3 氨氮和硫化氢对日本对虾幼体的毒性比较

氨氮和硫化氢对日本对虾都具有毒性作用。氨氮在水体中以离子氨(NH_4^+)和非离子氨(NH_3)两种形态存在,硫化氢在水体中以分子形式的硫化氢(H_2S)、硫氢根(HS^-)和硫离子(S^{2-})三种形态存在。根据氨氮和硫化氢的毒作用机理可知具有致毒作用的主要是非离子氨和分子形式的硫化氢。因此比较两者的毒性应该以非离子氨和分子形式的硫化氢作为参照。本实验中分子氨氮对日本对虾蚤状幼体、糠虾幼体和仔虾的安全浓度分别为 0.013 mg/L、0.033 mg/L 和 0.049 mg/L,分子硫化氢对各期幼体的安全浓度分别为 0.003 20 mg/L、0.004 4 mg/L 和 0.005 6 mg/L。比较氨氮和硫化氢的毒性作用可以看出,氨氮的毒性远小于硫化氢,两者相差一个数量级。

氨和硫化氢在水体中的电离受 pH 影响最显著。据报道^[13,14]当 pH 小于 7 时,氨氮几乎都为离子氨,当 pH 大于 11 时几乎都为非离子氨;当 pH 小于 5 时,硫化氢 99% 以分子形式存在,当 pH 大于 9 时,硫化氢 99% 以硫氢根形式存在。因此,在监测水质指标时,应该参照 pH、温度和盐度等环境因子根据公式将所测定的氨氮和硫化氢浓度转化为非离子氨和分子硫化氢,然后对照它们对日本对虾幼体的安全浓度来调控水质。此外,因为对虾幼体一直处于变态发育时期,而蜕皮时对虾幼体体质下降,更容易受到毒物的影响而引起死亡。因此,根据本实验结果作者建议,在日本对虾育苗期间的水质监测方面应该将非离子氨和分子硫化氢分别调控在不同幼体时期的安全浓度之内。

4 结论

氨氮和硫化氢是虾蟹类育苗过程中有机物分解形成的污染物,随着育苗的进行含量会逐渐增加,对虾蟹类育苗造成重要危害。本实验结果显示了氨氮和硫化氢对日本对虾各期幼体的毒性效应。氨氮对日本对虾蚤状幼体、糠虾幼体和仔虾的安全浓度分别为 0.295 mg/L、0.724 mg/L、1.072 mg/L;硫化氢对日本对虾蚤状幼体、糠虾幼体和仔虾的安全浓度分别为 0.043 0 mg/L、0.055 3 mg/L、0.070 5 mg/L。

日本对虾育苗过程中由于水温较高,容易导致残饵、粪便、动物尸体等有机物的分解,产生氨氮和硫化氢等有害物质。因此,育苗过程中要控制投饵量,及时清除池底积累的有机物。此外,对虾幼体阶段蜕皮频率较高,而蜕皮会导致幼体机体的抵抗能力减弱。所以,育苗期间要做好水质监测工作,将水体中的总氨氮浓度和硫化氢浓度控制在安全浓度范围之内。

参考文献:

- [1] 毕英佐,李桂峰,李海燕,等. 罗氏沼虾育苗水体氨氮、亚硝酸盐氮的变化规律及对幼体的影响[J]. 华南农业大学学报,2002,23(3):67-78.
- [2] Chen J C, Lei S C. Toxicity of ammonia and nitrite to *Penaeus monodon* juveniles[J]. Journal of World Aquaculture Society, 1990,21:300-306.
- [3] Chen J C, Kou Y Z. Effects of ammonia on growth and molting of *Penaeus japonicus* juveniles[J]. Aquaculture, 1992,104:245-260.
- [4] 臧维玲,江敏,张建达,等. 亚硝酸盐和氨对罗氏沼虾幼体的毒性[J]. 上海水产大学学报,1996,5(1):15-22.
- [5] 姚庆祯,臧维玲,戴习林,等. 亚硝酸盐和氨对凡纳对虾和日本对虾幼体的毒性作用[J]. 上海水产大学学报,2002,11(1):21-26.
- [6] 惠秀娟. 环境毒理学[M]. 北京:化学工业出版社,2003:266-269.
- [7] 王克行. 虾蟹类增养殖学[M]. 北京:中国农业出版社,1997:91.
- [8] 薛永刚. 养殖水体硫化氢的来源和防止对策[J]. 水产养殖,2000,17(6):37-38.
- [9] 孙振中,刘淑梅,戚隽渊,等. 非离子氨氮对罗氏沼虾幼体的毒性研究[J]. 水产科技情报,1999,26(4):174-176.
- [10] 孙国铭,汤建华,仲霞铭. 氨氮和亚硝酸氮对南美白对虾的毒性研究[J]. 水产养殖,2002(1),22-24.
- [11] 黄加祺,林琼武. 影响日本对虾亲虾蜕壳因素的探讨[J]. 海洋科学,2003,27(2):30-31,36.
- [12] 石俊艳,刘中,丁茂昌,等. 亚硝酸盐、硫化物与氨对河蟹幼体的急性毒性实验[J]. 辽宁大学学报,1999,26(1):92-96.
- [13] 董乔仕. 养殖水体氨氮的危害与改良[J]. 齐鲁渔业,2002,19(9):10.
- [14] 李海建. 水体中硫化氢产生原因及应对措施[J]. 科学养鱼,2002(10):47.