

克氏原螯虾亚成体和幼体对 不同氨浓度水环境的选择

陈 婷¹, 张 蕾¹, 唐建清², 黄 成^{1*}

(1. 南京大学生命科学学院, 江苏 南京 210093; 2. 江苏省淡水水产研究所, 江苏 南京 210017)

摘 要:以 NH_4Cl 为主要成分配比成不同浓度的氨溶液, 以 Y 型水迷宫为水环境的选择实验装置, 从克氏原螯虾的行为学角度出发, 探究其对不同浓度氨溶液的趋避选择性。实验共设置 5 个浓度梯度: 4.750、7.125、9.500、14.250 和 19.000 mg/L, 其 pH 值为 7.0, 水温为 $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 。以体长为 5.01 ± 0.43 cm 的克氏原螯虾亚成体及体长为 0.75 ± 0.15 cm 的幼体为实验对象, 在 Y 型水迷宫中的两个选择区中分别放入污水和清水, 供实验虾进行选择, 记录选择清水和污水的次数及未作出选择的次数, 对数据进行非参数检验的二项分布检验。结果表明亚成体在氨浓度 4.750、7.125、9.500 及 14.250 mg/L 时, 没有明显选择性, 在氨浓度 19.000 mg/L 时, 显著避开污水; 幼虾在氨浓度 4.750 mg/L 时, 没有明显选择性, 在氨浓度 7.125 和 9.500 mg/L 时, 显著避开污水, 当氨浓度达到 14.250 mg/L 及以上时, 出现中毒症状, 丧失选择能力。该结果证明克氏原螯虾对高浓度的氨氮型污水不仅没有偏好, 而且当浓度达到一定数值时会主动躲避, 或躲避不及发生行为异常乃至死亡。

关键词:克氏原螯虾亚成体; 幼体; 氨浓度; 选择

中图分类号: S931.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-8227(2011)10-1186-05

克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 俗称小龙虾, 是一类具有较高经济价值的水产动物^[1]。由于克氏原螯虾抗逆力很强, 能生活在一些生活污水、轻度工业废水中, 在农药施用地区的田沟、渠道中也有分布^[2], 所以公众及媒体认为小龙虾喜欢污水环境, 容易携带毒素、细菌等。但据笔者在实验室饲养观察及野外小龙虾养殖水体调查过程中发现, 当水质变坏发臭时, 有大量小龙虾死亡。为探究小龙虾是否偏好污水, 笔者设置了以 NH_4Cl 为主要成分的污水, 配比成不同浓度梯度, 探明其对不同氨浓度水环境的趋避性。

氨氮是养殖水体中重要的污染胁迫因子之一, 主要由虾的残饵、排泄物等有机物分解产生^[3], 氨分子具有相当高的脂溶性, 能穿透细胞膜毒害组织, 虾池中氨的积累会增加虾蜕皮次数^[4]。氨氮对虾的影响国内已有大量报道, 姚庆祯等研究了亚硝酸盐和氨对凡纳对虾 (*Penaeus vannamei*) 和日本对虾 (*Penaeus japonicus* BATE) 幼虾的毒性^[5], 李建等研究了氨氮对日本对虾幼体的毒性影响^[6], 孙国铭

等研究了氨氮对凡纳对虾 (*Penaeus Vannamei*) 的毒性^[7], 孙舰军等研究了氨氮对中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 抗病力的影响^[8], 聂月美等研究了氨氮对虾的免疫影响^[9], 陈孝煊等研究了澳大利亚红螯螯虾 (*Cherax quadricarinatus von Matens*) 对水中氨氮浓度的耐受性^[10]。本实验从克氏原螯虾的行为学角度出发, 既是对其生态习性的探究, 也为其水产养殖提供依据和指导。

1 材料与方法

1.1 实验用虾

挑选实验室培养的健康克氏原螯虾亚成体 60 只, 体长为 5.01 ± 0.43 cm, 附肢健全, 雌雄各半, 用白色塑料盒 ($22.0 \times 14.5 \times 7.0$ cm) 单独培养备用。挑选可离开母体自由活动, 体长为 0.75 ± 0.15 cm 的健康幼虾 360 只单独培养备用, 亚成体虾及幼虾每天投喂足量虾蟹配合饲料 (产品标准号: Q/321100DAE05-2009), 并在饲养水体中投放无根

收稿日期: 2011-01-09; 修回日期: 2011-03-24

基金项目: 国家公益性行业科研专项“克氏原螯虾产业技术与试验示范”(201003070)

作者简介: 陈 婷 (1987~), 女, 湖北省宜昌人, 硕士研究生, 主要从事水生动物研究。E-mail: Stoa_Partus@163.com

* 通讯作者 E-mail: huangcheng2008@sina.com

萍(*Wolfia arrhiza*)以调节水质同时也可供螯虾作为鲜活生物饵料采食。

1.2 实验材料

以 Y 型水迷宫(如图 1)为实验器材。其由 2 个选择区和 1 个静置区组成,2 个选择区的末端分别有 2 个圆形区域,其直径为 15 cm。选择区宽 5.8 cm,长 16 cm;静置区宽 6 cm,长 26 cm,深 10 cm,不透明,可盛水。

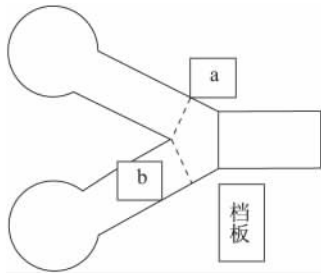


图 1 实验设置示意图

Fig. 1 Experiment Schematic Diagram

(将污水倒入其中一个选择区中,受试虾放置在静置区,并用挡板隔离(实线表示放置挡板的位置),a、b 两条虚线处表示幼虾实验中插入挡板的位置。)

将 NH_4Cl (分析纯)配制成初始溶液,氨浓度为 19.00 mg/L(实测),另 4 个浓度按倍比稀释,分别为 14.250、9.500、7.125、4.750 mg/L,并用约两倍质量于 NH_4Cl 的 NaHCO_3 来调节溶液 pH 至 7.0。实验所用清水为在储水箱中曝气 48 h 的自来水,储水箱中生长着密度约为 2 kg/m³ 的水花生,水体 pH 为 7.0,水温 $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 。

1.3 实验方法

向迷宫的静置区中注水,水深 4 cm。把实验虾放入迷宫,用挡板限制在迷宫的静置区,静置 5 min。向 2 个选择区中分别加入污水和清水,水深 4 cm。静置结束后,拉起挡板,使实验虾可以在 2 个选择区中进行选择(见图 1)。

亚成体虾与幼虾各设置一组空白实验,以探明其对左右侧是否有明显的偏好性。

亚成体虾与幼虾的实验方法不同。亚成体虾单只进行实验,并在选择区前放置遮光板并调节至两侧光照强度相等。每个浓度重复 35 次,每只实验虾 2 d 内不重复实验。当实验虾做出选择后(以实验虾的额剑接触选择区的圆形区域为准)立即捞出。若实验虾在 10 min 内未做出选择则记为未选择。每次做完重新换水。

幼虾则为每次实验同时放入 40 只至迷宫中。两侧选择区光照强度相等。拉起挡板,10 min 后在

图 1 中的 a 处和 b 处迅速插入挡板,统计各处幼虾数量,在污水端的幼虾视为选择污水,在清水端的幼虾视为选择清水,在静置区中的视为未做出选择。每个浓度做 3 组,使样本量达到 120,每次实验后换水。

2 实验结果和处理

2.1 克氏原螯虾亚成体对不同氨浓度水环境的选择

亚成体虾的空白实验结果为选左侧 17 次,右侧 15 次,二项分布检验结果为 0.860,并无显著差异,即其无显著的左右偏好。

亚成体虾在 5 个不同浓度下选择清水、污水及未选择的次数如表 1 所示;用 SPSS 11.5 对不同浓度下选清水与选污水的次数进行非参数检验的二项分布检验,检验概率为 0.50,各组二项分布检验的双侧概率如表 1 所示:

表 1 克氏原螯虾亚成体对不同氨浓度水环境的选择

Tab. 1 Selection of *P. clarkii* Sub-adult on Different

Ammonia Concentrations

氨浓度 (mg/L)	清水 (次)	污水 (次)	未选择 (次)	检验结果	行为表现
4.750	13	18	4	0.473	正常
7.125	16	16	3	1.000	正常
9.500	20	12	3	0.215	正常
14.250	19	15	1	0.608	正常
19.000	27	4	4	0.000	正常

结果表明氨浓度为 4.750~14.250 mg/L 时,选清水与选污水的次数均无显著差异。在氨浓度为 19.000 mg/L 时,两者间有极显著差异,选清水的次数明显比选污水的次数大。

2.2 克氏原螯虾幼体对不同氨浓度水环境的选择

幼虾的空白实验结果为选左侧 49 次,右侧 51 次,二项分布检验结果为 0.920,无显著差异,即幼虾也无明显的左右偏好。

幼虾在 5 个不同浓度下选择清水、污水及未选择的次数如表 2 所示;用 SPSS 11.5 对不同浓度下选清水与选污水的次数进行非参数检验的二项分布检验,检验概率为 0.50,各组二项分布检验的双侧概率如表 2 所示:

结果表明氨浓度为 4.750 mg/L 时,选清水与选污水的次数没有显著差异。氨浓度为 7.125 和 9.500 mg/L 时,两者差异极显著,选清水的次数明

表 2 克氏原螯虾幼体对不同氨浓度水环境的选择

Tab. 2 Selection of *P. clarkii* Juvenile on Different Ammonia Concentrations

氨浓度 (mg/L)	清水 (次)	污水 (次)	未选择 (次)	检验结果	行为表现
4.750	38(12.67±2.08)	39(13.00±3.61)	43(14.33±2.08)	1.000	正常
7.125	50(16.67±9.02)	20(6.67±1.53)	50(16.67±10.02)	0.000	正常
9.500	48(16.00±3.61)	23(7.67±2.08)	49(16.33±1.53)	0.004	正常
14.250	48(16.00±2.65)	41(13.67±2.52)	31(10.33±3.79)	0.525	异常
19.000	32(10.67±2.08)	25(8.33±0.58)	63(21.00±2.00)	0.427	异常

注:表中选择次数数据为 3 次试验的累加值,括号中为 3 次的平均值。

显大于选污水的次数。氨浓度为 14.250 和 19.000 mg/L 时,两者无显著差异。

3 讨论

3.1 克氏原螯虾对不同生境的耐受与选择

关于氨氮对克氏原螯虾的影响,仅见罗静波等的氨氮对克氏原螯虾幼虾的急性毒性研究^[11]和朱毅菲等对不同氨氮浓度突变对克氏原螯虾免疫功能的影响的研究^[12]。罗静波等人的研究结果表明氨氮对克氏原螯虾幼虾在 pH7.8、水温 20℃ 的条件下 24、48 h 的半数致死浓度分别为 167.54 和 121.48 mg/L^[11],比罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)幼虾(水温 28℃,pH7.6,24 h 半致死浓度为 115.00 mg/L)^[13]大,比澳大利亚红螯螯虾(*Cherax quadricarinatus von Matens*)幼虾(水温 21~22℃,pH6.7~7.2,48 h 半致死浓度为 118.06 mg/L)^[10]大,表明克氏原螯虾在淡水螯虾中对氨氮的耐受能力较高,但关于克氏原螯虾对不同氨浓度水环境的选择性未见有报道。欲探究克氏原螯虾是否喜欢污水,只通过在氨溶液水环境中是否发现有存活个体是无法说明的,能耐受某环境的压力并不代表喜好这样的环境,需从其自身的主观选择性来证明。

3.2 水生动物环境选择装置 Y 型水迷宫的使用

Y 型迷宫通常用于研究高等哺乳动物的学习记忆行为,而用于螯虾的行为学研究仅见 David L B 等的关于两种处于相同生态区域的原螯虾属螯虾种间信息素交流的研究^[14]。本实验使用的 Y 型水迷宫是本课题组研制的水生动物对不同生物或非生物环境的选择性行为学研究的实验器材(实用新型专利号 200820039199.9)。使用该装置旨在通过氨溶液在水中散发的化学信号来使螯虾做出反应,即选择(进入污水区)或避开(进入清水区),从而以克氏

原螯虾的行为学角度来探明其自身对不同浓度氨溶液的偏好。

3.3 克氏原螯虾亚成体对不同氨浓度水环境的选择性

为避免实验虾在迷宫的 2 个选择区中来回走动,使清水与污水被搅匀,故当实验虾做出选择就立即捞出。考虑到分子的布朗运动,按铵离子扩散的预实验结果设定 10 min 为最大时限,避免污水过度扩散到清水区域。当然无法完全避免污水向静置区乃至清水区的扩散,只能最大程度地减轻这种影响。从结果看出,在氨浓度为 4.750、7.125、9.500 和 14.250 mg/L 时,亚成体虾并没有明显避开污水也没有选择污水,当浓度达到 19.000 mg/L 时,明显躲避污水而选择清水,即螯虾回避氨溶液的浓度区间为(14.25,19.00]。该结果证明克氏原螯虾亚成体不喜欢污水的环境。

3.4 克氏原螯虾幼体对不同氨浓度水环境的选择性

由于幼虾个体小,行动力也不如亚成体虾,对水的搅动小,故等幼虾自由选择 10 min 后统计各处幼虾数量。且幼虾个体小,不便于观察,故设置 40 只幼虾一起进行选择,但一次性放入过多幼虾会致使其抱团或密度过大影响活动力,故分 3 次进行。氨氮对克氏原螯虾幼虾的安全浓度为 7.940 mg/L^[11],在本实验中,当氨浓度低于安全浓度(4.750 mg/L)时,幼虾对清水和污水没有选择性;当氨浓度接近(7.125 mg/L)和稍大于(9.500 mg/L)安全浓度时,幼虾明显避开污水而选择清水;当氨浓度大大高于安全浓度时(14.250 和 19.000 mg/L)时,虽然从结果看,幼虾对清水和污水的选择次数没有显著差异,但笔者在实验中观察到幼虾在实验过程中,行动迟缓,有些在水底侧卧、翻滚,实验结束后,14.250 mg/L 浓度下有 1 只死亡,19.000 mg/L 浓度下有 2 只死亡,这与罗静波等描述的克氏原螯虾幼虾氨中毒现象^[11]一致。这说明在氨浓

度 14.250 和 19.000 mg/L 下,实验结果没有差异的原因是高浓度的氨使幼虾行动力和感知能力下降,“误入歧途”的幼虾无法及时避开污水;静置区的水为清水,但由于浓度越高,扩散速度越大,污水扩散至静置区,也导致留在静置区的幼虾行动迟缓,不能及时逃入清水区。

3.5 分子态氨对克氏原螯虾亚成体及幼体的影响

氨氮对水生动物的毒害主要是分子氨(非离子态的氨),而离子铵毒性很小或没有毒性,故通常是以分子态氨浓度来评价养殖水环境^[15]。由于在水温 20℃、pH 为 7.0 条件下,分子态氨占总氨的百分比为 0.4%,本实验各组分子态氨的浓度计算值分别为 0.019 0、0.028 5、0.038 0、0.057 0、0.076 0 mg/L,克氏原螯虾亚成体明显躲避的分子氨浓度为 0.076 0 mg/L。幼虾明显躲避的分子氨浓度为 0.028 5 和 0.038 0 mg/L,引起氨中毒的分子氨浓度为 0.057 0 mg/L,而罗静波的研究结果为幼虾分子氨的安全浓度为 0.191 mg/L。引起这种差异的原因可能有两个方面:首先是实验动物大小的差异,本实验所用幼虾体长为 0.75 ± 0.15 cm,比罗静波所用幼虾小,所以可能对分子态氨的耐受力小。其次是环境因素,包括实验时的水环境条件和动物成长的环境背景:氨态氮毒性的大小受实验时环境因子的影响很大,这些因子主要包括水体的 pH 值、溶解氧、游离二氧化碳等^[16],本实验的水体 pH 为 7.0 而罗静波所用的水体 pH 为 7.8;此外,本实验的幼虾生长水环境为投放有水生植物的充分曝气水,并以充气泵提供充足的氧气,其生长环境氨浓度极小,而罗静波所用幼虾生长水环境的氨浓度未知,若生长环境中的氨浓度大,可能会提高虾对氨的耐受能力。故对在不同氨浓度水环境下生长的幼虾(甚至从亲本开始培养)对氨的耐受能力及选择的研究有重要意义,关于螯虾氨氮环境耐受驯养实验的研究有待进一步开展。

4 克氏原螯虾栖息生境与养殖环境分析

克氏原螯虾对环境的适应能力很强,在各种水体中都能生存,其对水体的 pH 值的要求是 6.5~8.5,溶氧量不低于 1.5 mg/L,盐度小于 15^[17],但这并不能证实克氏原螯虾喜好污水。本实验证实了克氏原螯虾对高浓度氨溶液没有偏好,当总氨浓度达到 7.125 mg/L(或分子态氨浓度达到 0.028 5 mg/L)时,幼虾会明显避开,当氨浓

度达到 19.000 mg/L(或分子态氨浓度达到 0.076 0 mg/L),亚成体虾会明显避开。而实际上,城市及农村生活污水的氨浓度远远高于本实验所设置的氨浓度,如北京生活污水中氨的浓度在 25~45 mg/L,上海为 47 mg/L^[18],并且成分复杂,含有其他有毒成分。所以小龙虾不喜欢更不会选择城市污水的环境,幼虾甚至能被城市污水毒死。在污水中偶然发现的成虾,可能是该物种的部分个体对氨的耐受力较强,且这与其生长的水环境有关,并不能说明小龙虾喜欢污水环境。

在小龙虾的苗种培育乃至种虾和商品虾的养殖中,应注重其水环境清洁化。朱毅菲等研究表明高浓度氨氮能在短时间内(<8 h)迅速提升螯虾的免疫能力,而长时间作用使螯虾抗病力下降,对病原的易感性提高^[12],所以控制养殖水体的氨浓度可以避免氨对克氏原螯虾免疫力的影响。在水产养殖中不仅要提高产量,更应提高其质量,保证水产品的安全性。

参考文献:

- [1] 刘孝华. 克氏原螯虾养殖探讨[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(22): 5 884~5 885.
- [2] 唐鑫生. 克氏原螯虾[J]. 生物学通报, 2001, 35(9): 19~20.
- [3] 姜令绪, 潘鲁青, 肖国强. 氨氮对凡纳对虾免疫指标的影响[J]. 中国水产科学, 2004, 11(6): 537~540.
- [4] CHEN J-C, KOU Y-Z. Effects of ammonia on growth and molting of *Penaeus japonicus* juveniles [J]. Aquaculture, 1992, 104: 249~260.
- [5] 姚庆祯, 藏维玲, 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): 22~26.
- [6] 李 建, 姜令绪, 王文琪, 等. 氨氮和硫化氢对日本对虾幼体的毒性影响[J]. 上海水产大学学报, 2007, 16(1): 22~27.
- [7] 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.
- [8] 孙舰军, 丁美丽. 氨氮对中国对虾抗病力的影响[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(3): 267~271.
- [9] 聂月美, 邵庆均. 氨氮对虾的免疫影响及其预防措施[J]. 中国饲料, 2006, 10: 28~31.
- [10] 陈孝煌, 吴志新, 熊 波. 澳大利亚红螯螯虾对水中氨氮浓度耐受性的研究[J]. 水产科技情报, 1995, 22(1): 14~16.
- [11] 罗静波, 曹志华, 蔡太锐, 等. 氨氮对克氏原螯虾幼虾的急性毒性研究[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2006, 3(4): 183~185.
- [12] 朱毅菲. 不同浓度氨氮、不同低 pH 突变对克氏原螯虾免疫功能的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006: 1~54.
- [13] ARMSTRONG D A, CHIPPENDALE D, KNIGHT A W, et

- al. Interaction of ionized and un-ionized ammonia on short-term survival and growth of prawn larvae *Macrobrachium rosenbergii*[J]. Biological Bulletin, 1978, 154: 15~31.
- [14] BECHLER D L, DENG X, MCDONALD B. Interspecific pheromonal communication between sympatric crayfish of the genus *procambarus* (decapoda, astacidea)[J]. Crustaceana, 1988, 54(2): 153~162.
- [15] 刘 鑫, 王 哲, 张 一, 等. 两种沉水植物对黄颡鱼(*Pseudobagrus fulvidraco*)夏花培育水体主要水质因子的影响[J]. 湖泊科学, 2003, 15(2): 184~188.
- [16] 张东鸣, 余 涛, 周景祥, 等. 氨态氮在渔业生产中的作用评述[J]. 吉林农业大学学报, 1999, 21(3): 124~128.
- [17] 刘其根, 李应森, 陈蓝荪. 克氏原螯虾的生物学[J]. 水产科技情报, 2008, 35(1): 21~23.
- [18] 国家环境保护局科技标准司. 城市污水土地处理技术指南[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1997, 1: 24.

SELECTION OF *Procambarus clarkii* SUB-ADULT AND JUVENILE OF DIFFERENT AMMONIA CONCENTRATION

CHEN Ting¹, ZHANG Lei¹, TANG Jian-qing², HUANG Cheng¹

(1. School of Life Science, Nanjing University, Nanjing 210093, China; 2. Freshwater Fisheries

Research Institute of Jiangsu Province, Nanjing 210017, China)

Abstract: This experiment used NH_4Cl for the main constituent to prepare ammonia solutions and a Y shape water maze for experiment equipment. Our purpose was to find out the selection of *Procambarus clarkii* of different ammonia concentration from the ethological point of view. Five concentrations of 4. 750, 7. 125, 9. 500, 14. 250 and 19. 000 mg/L were set. Their pH value was 7. 0, the temperature was $20 \pm 0. 5^\circ\text{C}$. *P. clarkii* sub-adult of $5. 01 \pm 0. 43$ cm in body length and juvenile of $0. 75 \pm 0. 15$ cm in body length were used for the experiment. Ammonia solution and clean water were put in the 2 selection areas of a Y shape water maze, then let the crayfish choose, the times of selection of ammonia solution, clean water and no selection were recorded. Binomial test of nonparametric tests to calculate the data was carried out. The result indicated that the sub-adults had no selection at the ammonia concentration of 4. 750, 7. 125, 9. 500 and 14. 250 mg/L, but they significantly avoided the ammonia solution with concentration of 19. 000 mg/L; the juveniles had no selection at the ammonia concentration of 4. 750 mg/L, but they significantly avoided the ammonia solution when the ammonia concentration is 7. 125 and 9. 500 mg/L, and they had toxic symptom and lost the ability of selection when the ammonia concentration is 14. 250 and 19. 000 mg/L. The study indicated that *P. clarkii* has no preference for ammonia solution and will avoid the ammonia solution when the concentration reaches the right value or even die when they can't avoid in time.

Key words: *Procambarus clarkii* sub-adult; juvenile; ammonia concentration; selection