

# 三氯异氰尿酸对脊尾白虾幼体存活及发育的影响

张成松, 李富花, 相建海

(中国科学院 海洋研究所 实验海洋生物学重点实验室, 山东 青岛 266071)

**摘要:** 三氯异氰尿酸(Trichloroisocyanuric acid, TCCA)是水产养殖中常用的水质消毒剂, 使用不当会给生产和环境带来危害。为指导脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)人工育苗过程中 TCCA 的安全用药, 作者利用静水试验法研究了 TCCA 对脊尾白虾幼体的急性毒性及对幼体发育的影响。实验设 7 个浓度梯度组(1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 mg/L)和 1 个空白对照组, 每组 3 个平行。急性毒性实验持续 96 h 后结束, 用正常育苗海水代替 TCCA 溶液, 正常管理直到幼体全部变态为仔虾, 评估短时间的 TCCA 处理对脊尾白虾幼体发育的影响。结果表明, TCCA 对脊尾白虾幼体在 24、48、72 和 96 h 的半致死浓度分别为 3.81、3.03、2.71 和 2.47 mg/L, 其安全浓度为 0.25 mg/L; 随着 TCCA 浓度的升高, 脊尾白虾幼体变态存活率显著降低( $P < 0.05$ ), 但能成功变态为仔虾个体的变态持续时间及仔虾体长与对照组无明显差异( $P > 0.05$ )。本实验结果可以为脊尾白虾人工育苗安全用药提供参考和依据。

**关键词:** 脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*); 三氯异氰尿酸; 幼体发育; 半致死浓度; 安全浓度

中图分类号: S945.4+9

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2013)09-0024-04

脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)又名白虾、小白虾等, 是中国特有的 3 种经济虾类之一, 其产量仅次于中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)和中国毛虾(*Acetes chinensis*)<sup>[1]</sup>。脊尾白虾环境适应性强、生长快、肉质好、养殖经济效益可观, 且耐低温, 适盐范围广, 经淡化可以在纯淡水中养殖<sup>[2]</sup>, 其养殖潜力大, 据不完全统计, 目前中国脊尾白虾养殖面积约 1 万  $\text{hm}^2$ <sup>[3]</sup>, 其养殖产量已占中国东部沿海混养池塘总产量的 1/3<sup>[4]</sup>, 尽管对于脊尾白虾的人工育苗技术已有所报道<sup>[5-6]</sup>, 但是其稳定高效的工厂化苗种繁育工艺尚未建立<sup>[3]</sup>, 养殖苗种多通过自然海区纳潮获得, 养殖面积及产量的提高受种苗限制明显。作者近几年来开展了脊尾白虾的繁殖生物学及人工生殖调控研究, 积累了较多的基础资料。

为了控制育苗水体病原体的存在量, 抑制疾病的发生, 定期使用消毒剂类药物, 对育苗水体、亲虾、幼体等进行消毒是预防疾病的有效方法<sup>[7]</sup>。但是, 自从发现某些药物具有致癌致畸作用以及高残留后, 农业部发布《食品动物禁用的兽药及其他化合物清单》, 把氯霉素、红霉素、呋喃类和孔雀石绿列为禁用药物, 而福尔马林有强致癌作用<sup>[8]</sup>。因此, 有必要寻找高效低毒的药物来代替使用<sup>[9]</sup>。

TCCA 商品名为强氯精或强氯净, 是一种极强的氧化剂和氯化剂, 具有高效、广谱且较为安全的消

毒作用, 对细菌、病毒、真菌、芽孢等都有杀灭作用。目前在水产养殖业中作为一种高效、价格低廉的消毒杀菌剂, 但这种具有代表性的水体消毒药物对水生生物、尤其是在甲壳类动物幼体的毒性影响研究较少。TCCA 对中国对虾<sup>[10]</sup>、罗氏沼虾(*Macrobrachium roseberii*)<sup>[7]</sup>、斑节对虾(*Penaeus monodon*)<sup>[9]</sup>及短沟对虾(*P. semisulcatus*)<sup>[11]</sup>等的毒性已见报道, 但对脊尾白虾幼体的毒性研究还未见报道, 作者初步研究了 TCCA 对脊尾白虾幼体变态发育的影响幼体及急性毒性效应, 旨在为脊尾白虾育苗过程中的安全用药提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验在南通聚濠水产有限公司育苗车间进行, 脊尾白虾 I 期幼体取自同一天孵化的 6 尾抱卵亲虾的后代混合群体, 选用游动活跃、趋光性好的幼体用于本实验。

收稿日期: 2012-12-04; 修回日期: 2013-03-26

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2011BAD13B01); 国家自然科学基金面上项目(41376165); 公益性行业(农业)科研专项经费项目(201103034)

作者简介: 张成松(1977-), 男, 山东临沂人, 助理研究员, 博士, 主要从事甲壳动物遗传育种研究, 电话: 0532-82898569, E-mail: chs-zhang@163.com; 相建海, 通信作者, 研究员, 博士生导师, 电话: 0532-82898568, E-mail: jhxiang@qdio.ac.cn

## 1.2 药品来源及母液配制

TCCA 为江苏光大动物药业有限公司生产, 商品名强氯精, 有效含量 61%。TCCA 以试验用水配制成有效含量 1 000 mg/L 的母液, 再稀释成所需试验浓度, 每次使用前配制。

## 1.3 试验条件

实验用水为自然海水(盐度 28~30, 用前经过砂滤及沉淀处理)与深井淡水等比例混合而成的育苗用水, 盐度 14~15, pH 值 7.4~7.6, 溶解氧大于 6 mg/L, 使用前充分曝气, 经 300 目过滤网袋过滤后使用。实验容器为 21 个 1 L 玻璃烧杯, 每杯盛水 1 000 mL, 放置脊尾白虾 I 期幼体 20 尾。实验在育苗车间内进行, 自然光周期, 水温 26~28 ℃。实验使用静水法, 全程不充气, 每天投喂少量刚孵化的卤虫(*Artemia salina*)无节幼体, 每 12 h 更换(100%)等 TCCA 浓度的新鲜育苗用水 1 次。

## 1.4 实验方法

### 1.4.1 预实验

实验设 6 个 TCCA 浓度组(0、1、2、3、4、5 mg/L), 在 6 个 1L 玻璃烧杯中进行, 每杯放脊尾白虾 I 期幼体 20 尾, 实验持续 96 h。统计各组在 96 h 的存活率, 根据全死或全活浓度确定正式实验浓度范围。幼体死亡标准: 幼体沉底, 用吸管轻碰无任何反应, 3 min 不动视为死亡。

### 1.4.2 急性毒性实验

根据预实验的结果, 设 0、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 mg/L 共 8 个浓度梯度, 每个梯度 3 个平行, 每个烧杯放脊尾白虾 I 期幼体 20 尾。实验持续 96 h, 分别在 24、48、72 和 96 h 换水时统计每个烧杯中的存活情况。

### 1.4.3 TCCA 对脊尾白虾幼体变态发育的影响

急性毒性实验结束时, 去除 100%死亡的浓度梯度或平行, 剩余各处理 100%换水(不含 TCCA 的育苗用水)1 次, 以后每天换水 80%并投喂卤虫无节幼体, 直到烧杯中的存活幼体全部变态为仔虾, 该浓度梯度或平行实验结束。每个烧杯结束实验时, 统计仔虾数量、记录变态持续时间(从幼体孵化到全部变态为仔虾), 并随机选取 5 尾仔虾在解剖镜下拍照以用作体长数据的测量。

## 1.5 数据处理

实验结果用平均数 ± 标准差表示, 所有实验数

据采用统计软件 SPSS(V15.0, 美国 SPSS 公司)处理。其中 TCCA 对脊尾白虾幼体的 24、48、72 和 96 h 的半致死浓度(LC<sub>50</sub>)及 95%置信区间计算采用 SPSS 软件回归分析功能中的 Probit 模型进行<sup>[12]</sup>。TCCA 浓度对脊尾白虾幼体变态存活率、变态持续时间及生长的影响采用单因素方差分析。如果方差分析表明处理间有显著差异, LSD 多重比较分析处理间的差异关系。取  $P < 0.05$  作为差异显著的标准。幼体的变态存活率计算公式为: 变态存活率 =  $100 \times N_{P1} / N_0$ , 式中  $N_{P1}$  为变态仔虾的数量,  $N_0$  为实验开始时 I 期幼体的数量; 幼体的生长情况以 1 期仔虾(P1)的体长表示; 安全浓度的计算公式为: 安全浓度 =  $96 \text{ hLC}_{50} \times 0.1$ 。

## 2 结果

在不同的 TCCA 实验浓度下, 脊尾白虾幼体中毒反应程度不同, 各浓度组在 24、48、72 和 96 h 的死亡率见图 1。低浓度组(0~1 mg/L)幼体在整个实验过程中游动能力和趋光性维持较好, 活力无明显变化。而高浓度组(3~4 mg/L)幼体在实验起始阶段表现的异常活跃, 游动速度及频率明显加快, 但随时间的推移, 其活力逐渐下降, 趋光性减弱, 在 48 h 以后半数或以上幼体身体发白, 静卧水底, 死亡或濒临死亡。除空白对照组(0 mg/L)外, 其他各实验组的死亡率均随时间的推移而不同程度升高。

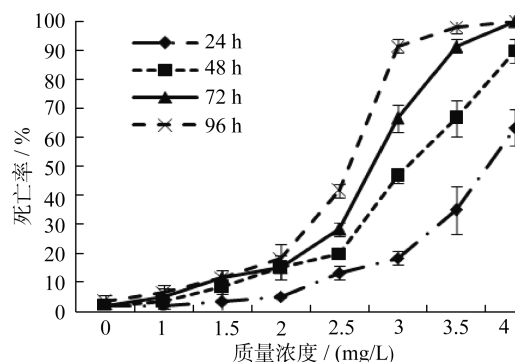


图 1 不同 TCCA 实验浓度下脊尾白虾幼体的在 24、48、72 和 96 h 的死亡率(%) (n=3)

Fig. 1 Mortality of *E. carinicauda* larvae at 24, 48, 72 and 96 h under different TCCA concentrations (n=3)

根据文献[10]的方法使用 SPSS 统计软件回归分析 Probit 模块计算出的 TCCA 半致死浓度、95% 置信区间及回归方程等见表 1。TCCA 对脊尾白虾幼体的安全浓度为 0.25 mg/L。

表2表明了96 h的TCCA处理对脊尾白虾幼体的变态存活率、变态持续时间及仔虾体长的影响,其中高浓度的TCCA对脊尾白虾变态存活率影响显著( $P<0.05$ ),但在能成功变态为仔虾浓度组间的变态持续时间及仔虾体长无明显差异( $P>0.05$ )。

表1 TCCA对脊尾白虾幼体急性毒性计算结果

Tab. 1 Acute toxicity of TCCA to *E. carinicauda* larvae

| 时间<br>(h) | 半致死浓度<br>(mg/L) | 95%置信区间<br>(mg/L) | 回归方程                   |
|-----------|-----------------|-------------------|------------------------|
| 24        | 3.81            | 3.60~4.17         | $y = -4.769 + 8.050x$  |
| 48        | 3.03            | 2.69~3.43         | $y = -3.947 + 8.205x$  |
| 72        | 2.71            | 2.16~3.02         | $y = -4.996 + 11.539x$ |
| 96        | 2.47            | 1.89~2.76         | $y = -5.186 + 13.199x$ |

表2 TCCA处理对脊尾白虾幼体的变态存活率、变态持续时间及仔虾体长的影响

Tab. 2 Effects of TCCA exposure on metamorphosis survival, metamorphosis duration and body length of the postlarvae in *E. carinicauda* larvae

| 质量浓度<br>(mg/L) | 变态存活率<br>(%)            | 变态持续时间<br>(d) | 体长<br>(mm) |
|----------------|-------------------------|---------------|------------|
| 0              | 91.67±2.89 <sup>c</sup> | 10.33±0.58    | 6.31±0.01  |
| 1.0            | 91.67±2.89 <sup>c</sup> | 10.67±0.58    | 6.28±0.03  |
| 1.5            | 86.67±2.89 <sup>d</sup> | 10.33±0.58    | 6.30±0.07  |
| 2.0            | 78.33±2.89 <sup>c</sup> | 10.67±0.58    | 6.32±0.04  |
| 2.5            | 50.00±5.00 <sup>b</sup> | 11.00±0.00    | 6.30±0.01  |
| 3.0            | 3.33±2.89 <sup>a</sup>  | 10.50±0.71    |            |
| 3.5            | 0.00±0.00 <sup>a</sup>  |               |            |
| 4.0            | 0.00±0.00 <sup>a</sup>  |               |            |

注:表中数据为平均值±标准偏差( $n=3$ ),同一列中具不同字母标记的数值表示差异显著( $P<0.05$ )

表3 TCCA对8种甲壳动物的安全浓度

Tab. 3 Safe concentration of TCCA to eight crustacean species

| 甲壳动物种类                                | TCCA 种类 | 发育阶段         | 安全质量浓度(mg/L) | 参考文献 |
|---------------------------------------|---------|--------------|--------------|------|
| 中国对虾                                  | TCCA    | 无节幼体         | 0.036~0.048  | [10] |
|                                       |         | 蚤状幼体         | 0.10~0.14    |      |
| 斑节对虾                                  | 复方 TCCA | 无节幼体         | 0.30         | [9]  |
|                                       |         | 蚤状幼体         | 0.22         |      |
|                                       |         | 糠虾幼体         | 0.34         |      |
|                                       |         | 仔虾           | 0.55         |      |
| 短沟对虾                                  | 复方 TCCA | 无节幼体         | 0.29         | [11] |
|                                       |         | 蚤状幼体         | 0.20         |      |
|                                       |         | 糠虾幼体         | 0.24         |      |
|                                       |         | 仔虾           | 0.53         |      |
| 红螯螯虾( <i>Cherax quadricarinatus</i> ) | TCCA    | 仔虾(9~10mm)   | 3.16         | [15] |
| 中国龙虾                                  | TCCA    | 10~11cm      | 8.68         | [16] |
| 罗氏沼虾                                  | TCCA    | 蚤状幼体         | 0.087~0.116  | [7]  |
|                                       |         | 仔虾(P1~2)     | 0.124        |      |
| 秀丽白虾( <i>Palaemon modestus</i> )      | TCCA    | 幼虾(3.5~5 cm) | 0.14         | [14] |
| 脊尾白虾                                  | TCCA    | 1~2 期幼体      | 0.25         | 本文   |

### 3 讨论

TCCA的降解速度与光照强度、波长、水温、pH值、水体大小及充气量等密切相关<sup>[5,13]</sup>。本实验在水体较小的1 L玻璃烧杯中进行,为了避免实验药物的过快分解,实验在光线较暗的育苗车间水泥池内进行,并适当遮光避免了日光灯照射,同时静水实验避免了因充气造成的TCCA过快分解,另外每12 h全量更换新鲜药液1次也有效保证了实验浓度的近似恒定。本实验中因空白对照组出现幼体少量死亡情况,故在数据处理过程中对其进行了相应矫正,在最大程度上保证了结果的可信性。

TCCA毒性因实验动物的种类及发育阶段而异。

表3列出了TCCA对8种甲壳动物的安全浓度,从中可以发现随着发育阶段的推进其对TCCA的耐受性增加,其在幼体阶段的安全浓度范围为0.1~0.5 mg/L。本实验中TCCA对脊尾白虾幼体的安全浓度为0.25 mg/L,符合上述范围,结果是可信的。

TCCA为氧化性杀菌剂,其在水中水解生成次氯酸,次氯酸再分解形成新生态氧和游离的活性氯,从而对细菌原浆蛋白产生氧化和氯化反应干扰微生物细胞代谢,达到杀菌消毒的目的。过高浓度或过长时间的TCCA暴露可能会导致水生动物的机体细胞功能损伤或其他不良影响,但是现有的报道大多只研究了TCCA对实验动物的急性毒性影响,而对于实验动物的后继生长、发育及存活等情况较少关注。作者观察了用7种浓度的TCCA处理96 h后实验组

在后期的变态发育情况,结果表明,用安全浓度4倍(1.0 mg/L)的TCCA处理4d尾白虾幼体变态到仔虾1期(P1)的变态存活率、变态持续时间及P1体长与空白对照组无明显差异,而中浓度组(1.5~2.5 mg/L)亦有半数或以上幼体成功变态发育到仔虾阶段,且其变态持续时间及仔虾体长与对照组一致,但较高浓度(3~4 mg/L)会引起幼体的快速、大比例死亡。在生产实践中,TCCA的用量一般较大,常常为建议用量的2~3倍,但幼体的摄食、变态正常,没有发生中毒现象,这可能与育苗水池中有机物比较多,充气较大,加快了药物降解速度,影响药物对幼体的毒性有关<sup>[9]</sup>。因此,建议在脊尾白虾人工育苗过程中,用TCCA进行细菌性病害防治时的用药浓度以0.5~1.0 mg/L为宜。

#### 参考文献:

- [1] 李新正,刘瑞玉,梁象秋. 中国长臂虾总科的动物地理学特点[J]. 生物多样性, 2003, 11(5): 393-406.
- [2] 王春琳,张芬来,宋利平,等. 脊尾白虾 *Palaemon carinicauda* 淡水驯化的研究[J]. 浙江水产学院学报, 1995, 14(2): 105-110.
- [3] 梁俊平,李健,刘萍,等. 脊尾白虾生物学特性与人工繁殖的研究进展[J]. 中国农学通报, 2012, 28(17): 109-116.
- [4] Xu W J, Xie J J, Shi H, et al. Hematodinium infections in cultured ridgetail white prawns, *Exopalaemon carinicauda*, in eastern China[J]. Aquaculture, 2010, 300: 25-31.
- [5] 徐国成,徐加涛,于斌,等. 脊尾白虾工厂化育苗生产技术研究[J]. 齐鲁渔业, 2008, 25(5): 1-3.
- [6] 徐加涛,徐国成,于斌,等. 脊尾白虾繁殖生物学及人工育苗生产技术[J]. 中国水产, 2007, 4: 52-55.
- [7] 张健东,陈刚. 两种消毒剂对罗氏沼虾幼体的急性毒性试验[J]. 湛江海洋大学学报, 1998, 18 (1): 9-14.
- [8] 符泽雄. 虾病防治[M]. 海口: 海南出版社, 2003: 110-116.
- [9] 温为庚,杨其彬,王雨,等. 复方三氯异氰尿酸对斑节对虾幼体的毒性试验[J]. 海洋水产研究, 2008, 29 (5): 54-58.
- [10] 刘如雷. TCCA、孔雀石绿、福尔马林对中国对虾幼体各期毒性研究[J]. 齐鲁渔业, 1993, 44 (1): 37-40.
- [11] 温为庚,杨其彬,黄建华,等. 复方三氯异氰尿酸对短沟对虾各期幼体的毒性[J]. 南方水产科学, 2011, 7(5): 68-72.
- [12] 贾春生. 利用SPSS软件计算杀虫剂的LC<sub>50</sub> [J]. 昆虫知识, 2006, 43(3): 414-417.
- [13] 曾淦宁,陈辰,沈江南,等. 海产养殖常用药物三氯异氰尿酸的光化学降解行为[J]. 农药, 2011, 50(1): 32-34.
- [14] 徐镇,徐如卫,周志明,等. 四种常用渔药对秀丽白虾的急性毒性试验[J]. 水产科学, 2005, 24(7): 29-31.
- [15] 吴志新,陈孝煊,唐镇宇. 红螯螯虾对3种药物耐受性的研究[J]. 华中农业大学学报, 2000, 19(4): 381-383.
- [16] 梁华芳,杜国平,罗开练. 3种消毒剂对中国龙虾的急性毒性试验[J]. 2011, 32(7): 1-4.

## Effects of trichloroisocyanuric acid on the survival and development of *Exopalaemon carinicauda* larvae

ZHANG Cheng-song, LI Fu-hua, XIANG Jian-hai

(Key Laboratory of Experimental Marine Biology, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Received: Dec., 4, 2012

**Key words:** *Exopalaemon carinicauda*; trichloroisocyanuric acid; larvae development; median lethal concentration; safe concentration

**Abstract:** Trichloroisocyanuric acid (TCCA) is a common disinfectant used in aquaculture, however, improper use of TCCA will bring hazard both to aquaculture and environment. In order to learn the effect of TCCA on aquaculture, a static bioassay test was conducted to investigate the acute toxicity of TCCA and its effects on the larvae development of *Exopalaemon carinicauda*. New-hatched larvae of *E. carinicauda* were exposed to eight concentrations of TCCA (0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 and 4.0 mg/L for 96 h, and three replicates was set under each concentration level. After each exposure of TCCA, the survived individuals were reared under normal conditions till developed to the postlarvae stage. The metamorphosis survival, metamorphosis duration and body length of the postlarvae were compared to evaluate the possible chronic toxicity of TCCA to *E. carinicauda* larvae. The results showed that the 24, 48, 72 and 96 h LC<sub>50</sub> are 3.81, 3.03, 2.71 and 2.47 mg/L, respectively. The safe concentration (SC) of TCCA to *E. carinicauda* larvae is 0.25 mg/L. The metamorphosis survival decreased significantly ( $P < 0.05$ ) with the increases of TCCA concentration, while there was no significant difference in metamorphosis duration and body length of the postlarvae for the survived individuals among different TCCA concentrations ( $P > 0.05$ ). The results in the present study provide important references for safe medication in nursery of *E. carinicauda*.

(本文编辑: 谭雪静)