

Ca²⁺, Mg²⁺ 对中国龙虾叶状幼体存活、变态的影响

陈昌生^{1,2}, 纪德华^{1,2}, 陈政强^{1,2}, 颜素芬^{1,2}, 王淑红^{1,2},
姜永华^{1,2}, 孙纪明^{1,2}, 郭 英^{1,2}

(1 集美大学 水产学院, 福建 厦门 361021; 2 集美大学 水产生物技术研究所, 福建 厦门 361021)

关键词: 中国龙虾; 叶状幼体; 存活; 变态; Ca²⁺; Mg²⁺

中图分类号: Q959 223⁺ 63 文献标识码: A 文章编号: 0253-4193(2005)01-0163-05

1 引言

龙虾是高级海产品, 经济价值很高. 龙虾的发育要经过叶状幼体、游龙虾幼体、稚龙虾和成体龙虾几个阶段. 在龙虾幼体的培育中, 叶状幼体生长、蜕皮、变态所需时间最长. 影响叶状幼体存活、变态的因子较多, 除了温度、盐度、光照以及饵料的质量、数量之外, 还与海水中的矿物元素等有关. 在矿物元素中 Ca²⁺, Mg²⁺ 作用显得比较突出. 龙虾蜕壳、生长与体内的 Ca²⁺, Mg²⁺ 积累有关, Ca²⁺, Mg²⁺ 对龙虾幼体的营养物质和能量代谢极为重要. 龙虾幼体在蜕皮生长的过程中需要足够的钙、镁来满足体壳(皮)的更新和机体的生长所需. 目前龙虾生长发育与矿物元素的关系, 尤其是 Ca²⁺, Mg²⁺ 对其生长发育影响方面的研究尚属空白. 笔者在开展了生态因子对中国龙虾叶状幼体生长发育影响、叶状幼体的摄食、饵料营养需求的研究基础上, 进一步开展了 Ca²⁺, Mg²⁺ 对其影响的实验. 本文着重探讨了水环境中 Ca²⁺, Mg²⁺ 含量及两者之间的相互关系对中国龙虾叶状幼体存活、变态的影响, 为叶状幼体的培育及营养需求的研究积累资料.

2 材料和方法

2.1 材料来源

中国龙虾 (*Panulirus stimpsoni*) 亲虾分别购自福

建东山和龙海附近海域并置于龙海海区的网箱中养殖. 抱卵亲虾置于室内水泥池培养, 待叶状幼体孵出后, 灯诱收集, 用于各实验.

2.2 方法

2.2.1 叶状幼体培养液的制备及培育

培养液分为人工海水和天然海水两种. 人工海水根据朱树屏人工海水配方^[1], 先配制无 Ca²⁺, Mg²⁺ 的人工海水, 然后加入一定浓度的 Ca²⁺, Mg²⁺ 进行预实验, 确定其对幼体影响较大的浓度范围. 根据选定的浓度, 在人工海水中添加 Ca²⁺ 或 Mg²⁺, 使其含量分别达到 100, 300, 500, 700 和 0 mg/dm³ (对照组). 自然海水的盐度为 28.5, 测定其 Ca²⁺, Mg²⁺ 含量分别为 366.3 和 1163.3 mg/dm³. 取初孵叶状幼体 25 尾, 置于 1000 cm³ 的上述培养液中, 投喂卤虫幼体, 进行叶状幼体培养, 观察各期叶状幼体的存活率、变态率及摄食情况. 试验设置了 2 个平行组 (下同).

2.2.2 人工海水中 Ca²⁺/Mg²⁺ 的值对叶状幼体存活、变态影响的试验

根据预实验选择浓度范围, 然后在人工海水中添加不同比值的 Ca²⁺, Mg²⁺ (见图 1~6), 对照组中不添加 Ca²⁺, Mg²⁺, 然后投放叶状幼体进行培育试验, 观察叶状幼体的存活和变态.

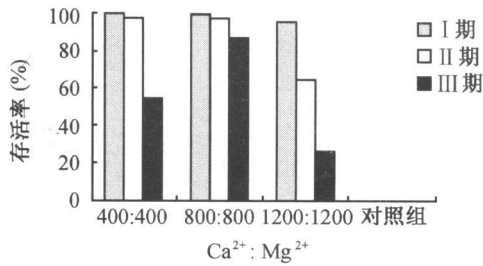


图1 人工海水中1 l的Ca²⁺, Mg²⁺浓度对叶状幼体存活率的影响

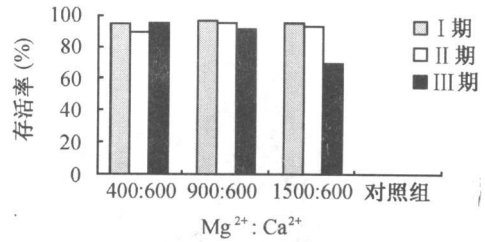


图5 人工海水中不同Mg²⁺浓度(Ca²⁺相同)对叶状体存活率的影响

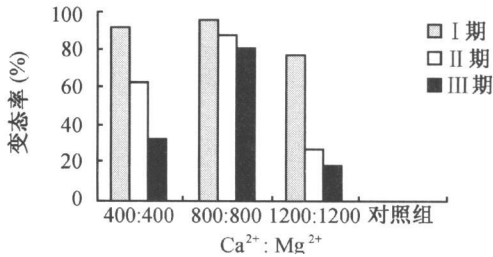


图2 人工海水中1 l的Ca²⁺, Mg²⁺浓度对叶状幼体变态的影响

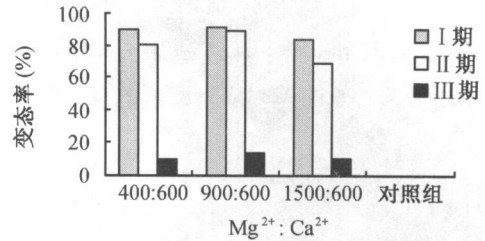


图6 人工海水中不同Mg²⁺浓度(Ca²⁺相同)对叶状体变态率的影响

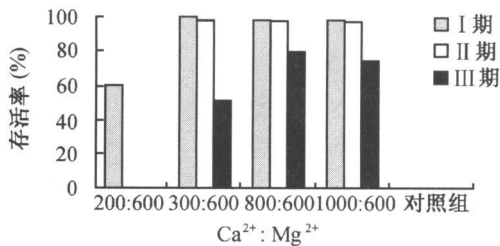


图3 人工海水中不同Ca²⁺浓度(Mg²⁺相同)对叶状体存活率的影响

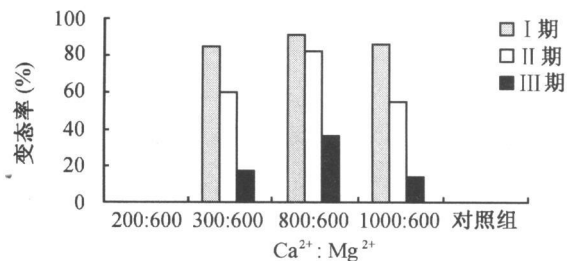


图4 人工海水中不同Ca²⁺浓度(Mg²⁺相同)对叶状体变态率的影响

2.2.3 自然海水中添加Ca²⁺, Mg²⁺对初孵叶状幼体的影响试验

在自然海水中添加不同浓度的Ca²⁺或Mg²⁺(表1),每隔24 h观察叶状幼体的活力、游动情况及存活率,连续进行96 h然后通过直线内插法计算半

致死浓度(L₅₀).急性毒性试验以叶状幼体死亡为中毒的主要观察指标,试验期间不投饵,不换水.

表1 人工海水中单因子Ca²⁺或Mg²⁺浓度对初孵叶状幼体存活的影响

浓度 / mg dm ⁻³	平均存活率 (%)				
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d
Ca ²⁺	100	8 0	0	0	0
	300	70 0	27 5	2 5	0
	500	77 5	20 0	7 5	5 0
Mg ²⁺	700	97 5	75 0	27 5	12 5
	100	0	0	0	0
	300	0	0	0	0
	500	55 0	17 5	0	0
	700	82 5	30 0	0	0

注:对照组(不含Ca²⁺, Mg²⁺)幼体1~5 d的存活率为0

2.2.4 数据计算和分析

存活率等于每期幼体的存活数除以实验幼体总数.

变态率等于每期幼体的变态数除以变态前的实验幼体总数.

实验数据的差异显著性由单因素方差分析结果

表示, 组间数据的两两比较由 t -检验法判断, 若 $P < 0.01$, 则差异极显著; 若 $P < 0.05$, 则差异显著。

3 结果

3.1 人工海水中单因子的 Ca^{2+} , Mg^{2+} 对叶状幼体存活的影响

将叶状幼体投入不含 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的人工海水中即可发现幼体全部下沉, 并且随之死亡。当 Ca^{2+} 为 $100 \text{ mg}/\text{dm}^3$ 时, 第 1 天仅有 2 尾存活。到了第 2 天, 2 尾幼体也出现死亡。当 Ca^{2+} 浓度增大到 $300 \text{ mg}/\text{dm}^3$ 以上时, 幼体存活率随之提高。当 Ca^{2+} 浓度为 $700 \text{ mg}/\text{dm}^3$ 时, 第 3 天和第 4 天的存活率仍可达到 27.5% 和 12.5%, 但到了第 5 天也全部死亡。人工海水中添加 Ca^{2+} 达 $100 \text{ mg}/\text{dm}^3$ 以上时的幼体存活率与对照组差异极显著 ($P < 0.01$)。

人工海水只含 Mg^{2+} 而不含 Ca^{2+} 时, 对叶状幼体影响更为严重, 在 Mg^{2+} 为 100 和 $300 \text{ mg}/\text{dm}^3$ 时, 第 1 天培育的幼体就全部死亡。当 Mg^{2+} 浓度增大到 $500 \sim 700 \text{ mg}/\text{dm}^3$ 时, 幼体存活率虽然有所提高, 但到了第 3 天叶状幼体也同样全部死亡 (见表 1)。在高浓度 Mg^{2+} ($300 \text{ mg}/\text{dm}^3$ 以上) 中的幼体存活率与

低浓度 Mg^{2+} 及对照组差异极显著 ($P < 0.01$)。

3.2 人工海水中 Ca^{2+} / Mg^{2+} 的值对叶状幼体存活、变态的影响

根据预实验确定浓度范围, 然后进行实验比较。人工海水中同时添加等量的 Ca^{2+} , Mg^{2+} 后, 叶状幼体的存活率和变态率比只添加单因子的 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 的实验组明显提高。在 Ca^{2+} / Mg^{2+} 比值为 400/400 和 800/800 时, 幼体存活率和变态率均比较高, 当 Ca^{2+} / Mg^{2+} 增大到 1200/1200 时, 存活率和变态率反而下降 (见图 1, 2)。

人工海水中添加不同比例的 Ca^{2+} , Mg^{2+} 对叶状幼体存活、变态的影响结果如图 3~6 所示。当培养液中 Ca^{2+} 浓度低时, 叶状幼体存活率和变态率都较低, 当 Ca^{2+} / Mg^{2+} 的值增大到 800/600 时, 幼体存活率和变态率都有明显提高。从图 5 和 6 可以看出, 当 Mg^{2+} 的浓度高于 Ca^{2+} 的浓度时, 虽然幼体第 1 至 3 期的存活率较高, 但幼体发育到第 3 期, 变态率却明显下降。人工海水中添加不同浓度比例的 Ca^{2+} , Mg^{2+} 时的叶状幼体的存活率、变态率与对照组相比, 差异极显著 ($P < 0.01$)。

表 2 自然海水中添加 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 对初孵叶状幼体的毒性试验

浓度 / $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$	24 h		48 h		72 h		96 h		
	平均存活率 (%)	L_{50} / $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$	平均存活率 (%)	L_{50} / $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$	平均存活率 (%)	L_{50} / $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$	平均存活率 (%)	L_{50} / $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$	
Ca^{2+}	0	95.0	95.0		90.0		90.0		
	30	97.5	97.5		90.0		90.0		
	50	97.5	95.0		90.0		82.5		
	100	100.0	95.0		90.0		85.0		
	150	100.0	97.5		90.0		85.0		
	400	97.5	2.066	92.5	1.850	87.5	1.700	85.0	1.475
	800	100.0		92.5		87.5		85.0	
	1000	100.0		95.0		85.0		70.0	
	1200	100.0		92.5		75.0		65.0	
	1400	92.5		95.0		80.0		65.0	
Mg^{2+}	1500	92.5		85.0		70.0		45.0	
	0	95.0		95.0		90.0		90.0	
	50	95.0		95.0		90.0		90.0	
	200	100.0		97.5		90.0		90.0	
	300	100.0		97.5		85.0		82.5	
	400	100.0		100.0		95.0		80.0	
	500	97.5	3.625	95.0	2.100	92.5	1.944	80.0	1.500
	600	100.0		92.5		82.5		80.0	
	800	100.0		92.5		82.5		72.5	
	1000	97.5		90.0		75.0		65.0	
1500	92.5		80.0		70.0		50.0		
2000	82.5		55.0		47.5		35.0		

3.3 自然海水添加 Ca^{2+} , Mg^{2+} 对叶状幼体的毒性作用

从表 2 可以看出,即使在自然海水中人为添加的 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 的浓度高达 $1\ 200$ 和 $1\ 000\ \text{mg}/\text{dm}^3$, 在 $72\ \text{h}$ 内叶状幼体的存活率为 75% , $96\ \text{h}$ 时 Ca^{2+} , Mg^{2+} 的半致死浓度 (L_{50}) 仍高达 $1\ 475$ 和 $1\ 500\ \text{mg}/\text{dm}^3$, 但总的来看,过高的 Ca^{2+} , Mg^{2+} 使幼体的存活率降低. 自然海水中添加不同比例的 Ca^{2+} , Mg^{2+} 对叶状幼体也有一定的影响 (另文报道).

4 讨论

(1) Ca^{2+} , Mg^{2+} 对中国龙虾叶状幼体存活和生长影响很大. 当人工海水中的 Ca^{2+} 浓度低于 $300\ \text{mg}/\text{dm}^3$ 时, 叶状幼体游泳能力迅速下降, 立即下降到容器的底部. 当 Ca^{2+} 浓度大于 $500\ \text{mg}/\text{dm}^3$ 时, 幼体的活力逐渐增强, 分布在水体的中、上层, 并且附肢摆动和游泳均比较正常, 存活时间也延长 $4\sim 5\ \text{d}$. 当水中有 Mg^{2+} 而无 Ca^{2+} 时, 即使把叶状幼体投放到 Mg^{2+} 浓度高达 $700\ \text{mg}/\text{dm}^3$ 的培养液内, 第 1 天就有 60% 幼体下沉, 第 2 天幼体全部沉底, 在容器底部爬行, 并且出现大量死亡, 死亡率在 70% 以上, 到了第 3 天就全部死亡. 在 Mg^{2+} 含量低的培养液中, 幼体死亡更加迅速. 从 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 的单因子作用来看, Ca^{2+} 对叶状幼体存活影响更为显著, 这一点与中国对虾极为相似. 王慧等^[2]指出, 从单因子的 Ca^{2+} , Mg^{2+} 对中国对虾影响的主次性来看, 中国对虾存活率随 Ca^{2+} , Mg^{2+} 浓度的增大而提高但主要受 Ca^{2+} 浓度的影响. 虽然单独提高 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 的浓度可以使叶状幼体存活延长几天, 但是无论浓度多大, 单因子的 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 都最终难以使叶状

幼体变态.

(2) 单因子 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 只能使叶状幼体勉强存活 $2\sim 5\ \text{d}$ 非常短暂, 但是, 当混合使用 Ca^{2+} , Mg^{2+} 时, 由于两者之间存在着交互作用, 能满足幼体生长发育的需要, 叶状幼体存活时间明显增长. Ca^{2+} 在甲壳动物生命过程中起着重要作用, 其周期性的蜕皮 (壳) 需要大量的 Ca^{2+} , 这些 Ca^{2+} 必须通过体表吸收或从饵料得到补充, 对叶状幼体蜕皮来说, 水环境中的 Ca^{2+} 显得非常重要. Mg^{2+} 作为一种矿物元素参与了机体内许多重要活动, 如 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 一起协调神经和肌肉的敏感性, 尤其 Mg^{2+} 作为各种酶的辅基和激活剂, 对酶的活力起重要的调节作用^[5]. Ca^{2+} , Mg^{2+} 联合应用具有协调效应, 减少了幼体因蜕皮障碍和营养代谢缺陷所引起的死亡, 提高了成活率. 本试验结果也表明水体中 Ca^{2+} , Mg^{2+} 含量及比例影响了中国龙虾幼体的蜕皮和体内营养物质的积累, 导致其生长、存活、变态等生态差异. 由此可进一步看出 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的作用是密不可分.

(3) Ca^{2+} , Mg^{2+} 对蟹和对虾的生长、存活的影响已有报道^[2,4,6,7], 但有关水中的 Ca^{2+} , Mg^{2+} 对中国龙虾生长发育影响的报道迄今未见. 中国龙虾叶状幼体的生长发育总是与蜕皮休戚相关, 其蜕皮、变态是相互联系又彼此独立的过程. 根据笔者前期的研究工作发现, 叶状幼体后期蜕皮变态率低, 很多幼体死于蜕皮综合症. 因此, 如何促进叶状幼体蜕皮、提高蜕皮率是叶状幼体培育的关键之一. Ca^{2+} , Mg^{2+} 对中国龙虾蜕皮、生长、变态及营养代谢极为重要, 水中一定浓度的 Ca^{2+} , Mg^{2+} 是中国龙虾甲壳钙化过程中所必需的, 在叶状幼体培育中通过调节水体中的 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 或在饵料中添加适宜的 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} , 将有利于促进幼体的蜕皮和生长.

参考文献:

- [1] 高绪生, 王琦, 王仁波, 等. 鲍鱼 [M]. 辽宁: 辽宁科学技术出版社, 2000: 170.
- [2] 王慧, 房文红, 来琦芳. 水环境中 Ca^{2+} , Mg^{2+} 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.
- [3] DEBY P S B. Calcification in crustacean: The fundamental process [J]. Physiologist, 1980, 23: 105.
- [4] 董双林, 堵南山, 赖伟. pH 值和 Ca^{2+} 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] 艾庆辉, 王道尊. 镁对异育银鲫生长的影响 [J]. 上海水产大学学报, 1998, 7(增刊): 148-153.
- [6] 成永旭, 王武, 潭玉均, 等. 盐度及钙镁离子对中华绒螯蟹大眼幼体育成期仔蟹成活率和生长的影响 [J]. 水产学报, 1997, 21(1): 84-88.
- [7] 臧维玲, 江敏, 戴习林, 等. 中华绒螯蟹育苗用水中 Mg^{2+} 与 Ca^{2+} 含量及 $\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ 对出苗的影响 [J]. 水产学报, 1998, 22(2): 111-115.

The effects of Ca^{2+} and Mg^{2+} on the survival and metamorphosis of the phyllosoma of *Panulirus stimpsoni*

CHEN Chang-sheng^{1,2}, JI De-hua^{1,2}, CHEN Zheng-qiang^{1,2}, YAN Su-fen^{1,2},
WANG Shu-hong^{1,2}, JIANG Yong-hua^{1,2}, XUN Jiming^{1,2}, GUO Ying^{1,2}

(1 Fisheries College of Jin ei University, Xiamen 361021, China; 2 Institute Fishery Biotechnology of Jin ei University, Xiamen 361021, China)

Key words *Panulirus stimpsoni*; phyllosoma; survival; metamorphosis; Ca^{2+} ; Mg^{2+}