

卤虫用于A/F防污效果初选 评价实验及其计算公式*

黄修明 尹建德 张枫轩

(中国科学院海洋研究所)

对于一种防污涂料(A/F)防污效果的评价,现行的方法是拟好配方、研制漆样、涂刷试板进行海港挂板(静态或动态)试验,根据结果进行鉴别;然后选出防污效果优越的配方进一步进行实船涂装实验。试验效果好的配方再小批量试产试用,供应用户;并在整个过程中配合进行防污涂料渗毒率的测定工作,借以了解毒物的渗出情况,提供作为改进配方的根据。这种评价方法是一个漫长过程。为了在一次筛选过程中更有把握地选出好配方,故设计参加筛选的配方数目必然很多。其实在这众多的配方中,好的只是几个,绝大多数配方防污效果都是不好的,这就增加了很多无意义的工作量。

为了解决这个问题,不少国内、外学者曾采用A/F酸碱实验(A. E. Burns, 1943)、甘氨酸(B. H. Ketchum et al, 1943; B. H. Ketchum, 1948)、氯化铵¹⁾、乙二胺²⁾等化学加速毒物渗出实验,取得了一定成绩。但有的加速渗出,测试结果与实际结果不完全符合,比数也难以确定。还不能作为唯一的评价方法。

本文提出用甲壳动物卤虫来进行A/F防污效果室内生物测试初选评价实验方法。现将实验总结报道如下。

一、实验材料和方法

(一) 实验动物——卤虫生物学和生态学

卤虫(*Artemia salina* L.)属于甲壳动物(Crustacea),鳃足亚纲(Branchiopoda),盐水丰年虫科(Branchinectidae)(图1);生活于盐场高盐水体中。它的生殖有两种情况:当环境适宜时,雌体产出的卵子留在亲体的育卵囊内孵化;但在气候寒冷、环境恶劣的条件下产生“休眠卵”或一般称“冬卵”。它的幼虫发育可分为四个时期。

1. 无节幼虫期 即刚孵化的幼虫。身体长椭圆形。头部有三对附肢,第二对附肢特别大。身体前端有一个单眼(图2)。

2. 后无节幼虫期 无节幼虫第一次蜕皮后身体延长,后部出现不明显的分节(图3)。

3. 无柄复眼幼虫期 后无节幼虫第二次蜕皮后,身体后部出现11个明显的体节。附肢具雏形。头部两侧生出一对复眼,但尚未长眼柄(图4)。

4. 幼体期 无柄复眼幼虫第三次蜕皮后成为幼小个体。此时复眼已经长出很短的眼

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第1088号;本文曾在中国海洋湖沼学会第四届全国会员代表大会及学术年会(1984)上宣读。

1) 中国科学院海洋研究所三室,氯化铵加速防污涂料中毒物渗出的实验方法(内部资料)。

2) 中国科学院南海海洋研究所,船底防污漆乙二胺加速测试方法研究初步报告(内部资料)。

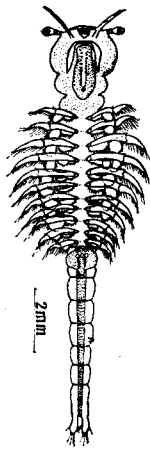


图1 卤虫腹面

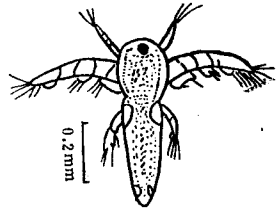


图2 孵化后一天的卤虫无节幼虫(背面观)

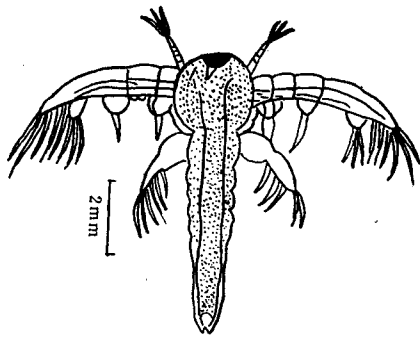


图3 孵化后10天的卤虫后无节幼虫(背面观)

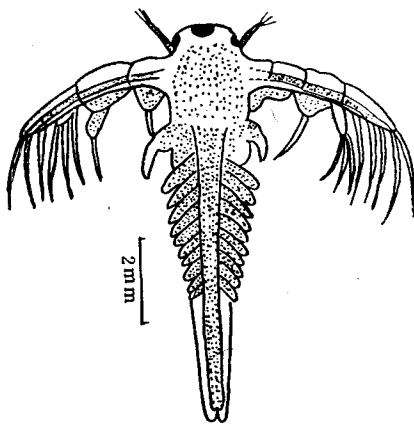


图4 孵化后20天的卤虫无柄复眼幼虫(背面观)

柄。附肢发育完全。身体后端形成9个不具附肢的体节。再蜕皮一次，眼柄加长，整个身体

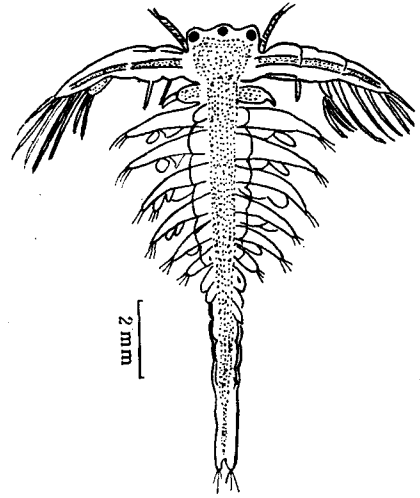


图5 孵化后25天的卤虫幼体(背面观)

的结构和成体完全一样(图5)。

卤虫冬卵在人工配制的海水中亦能孵化和正常地生活。但孵化率比在天然海水低(陈清潮等, 1975)。本实验用的人工海水配方及冬卵孵化, 结果见表1、2。

表1 人工海水采用Dittmer配方

试剂名称	克/1000克水
NaCl (Sodium chloride)	27.2
MgCl ₂ (Magnesium chloride)	3.8
MgSO ₄ (Magnesium sulfate)	1.7
CaSO ₄ (Calcium sulfate)	1.3
K ₂ SO ₄ (Potassium sulfate)	0.8
MgBr ₂ (Magnesium bromide)	0.07
CaCO ₃ (Calcium carbonate)	0.1

表2 卤虫冬卵在人工海水(Dittmer配方)中的孵化结果

实验序号	实验时间	投放冬卵数(粒)	孵化率(%)
1	82.6.23	100	52
2	82.7.5	100	48
3	82.7.9	100	56
平均			52

(二) 实验方法

1. 涂料浸泡液的制备 (1) 将 $12 \times 5 \text{cm}$ 的毛玻璃板洗净烘干称重。(2) 把要试验的涂料分别涂刷在毛玻璃板中央, 涂刷面积为 $36 \text{cm}^2 (9 \times 4 \text{cm})$, 涂刷二道, 干后称重 (调整试板涂漆量, 尽量使其一致)。(3) 把试板用线绳系好, 悬挂于盛有 2000ml 海水的方缸中, 浸泡一个月。

2. 卤虫冬卵的孵化 在培养缸中盛海水 $2000-3000 \text{ml}$, 在水面撒上少许卤虫冬卵, 静置 2—4 天 (取决孵化时的室温) 即能孵化出无节幼虫 (Nauplius)。我们的实验就是应用无节幼虫。

3. 实验程序 (1) 根据要试验涂料品种的数量, 每种准备 3 套培养皿。(2) 用移液管分别吸取涂料浸泡液 25ml 放入培养皿内。

(3) 用滴管吸取少量无节幼虫滴于一小片滤纸上, 在解剖镜下数出无节幼虫 10 个, 放入培养皿 (在水体中无节幼虫活动范围大, 不便计数)。并准备 3 个培养皿盛海水作为实验对照组。(4) 每日用解剖镜检查一次, 分别计算各培养皿中卤虫无节幼虫死亡的个数并用镊子把它取出 (如不取出, 死亡个体腐烂分解会影响水质), 并作记录, 待实验结束后计算结果。

二、实验数据及结果计算公式

(一) 实验数据

本实验是应用 11 种已知防污效果的防污涂料 (黄修明等, 1984)^{1), 2)}。它们是 L-10-2, L-10-5, L-10-6, L-10, 71-33, L-2, L-29, L-31, L-42, L-43, L-44; 前 5 种为有机锡防污涂料, 后 6 种为氧化亚铜防污涂料。现将实验所获得数据列于表 3。

(二) 结果计算公式

上列实验数据是受试动物在整个实验过程中每天的死亡数。用它还不能简明地表示出每种涂料的防污效果, 必须进行换算。

由于没有现成的计算公式可供应用, 我们

只好根据实验的要求, 自己建立一个计算式。这个计算式最后的结果是用数字 (得分) 表达的。得分的多少与受试动物在实验过程中哪一天死亡和死亡个数有关。第一天死亡的个体要比第二天死亡的个体得分高。具体实验要求和大量实验结果的统计表明, 第一天死亡的个体与以后各天死亡个体的得分, 用最简单的等差级数表示较为合适。以这个作为基础, 可以列出如下计算公式:

$$A. E. = R_e - R_c$$

式中, A. E. 为实验防污涂料室内生物实验的防污效果; R_e 为实验组; R_c 为实验对照组。

设 m 为实验卤虫样品总个数; x_i 为实验期间各天卤虫死亡的个数; $i = 1, 2, 3, \dots, 10$; p 为实验期间卤虫死亡的总个数。

$$\begin{aligned} R_e &= \frac{10}{m} (10x_1 + 9x_2 + \dots + 1x_{10}) \\ &= \frac{10}{m} \left(10 \sum_{i=1}^{10} x_i - \sum_{i=1}^9 ix_{i+1} \right) \\ &\because \sum_{i=1}^{10} x_i = p, \quad p \leq m \\ \therefore R_e &= \frac{10}{m} \left(10p - \sum_{i=1}^9 ix_{i+1} \right) \end{aligned}$$

设 x_{ci} 为实验对照组每天卤虫死亡的个数; $i = 1, 2, 3, \dots, 10$ 。

则对照组的计算式为:

$$R_c = \frac{10}{m} \sum_{i=1}^{10} (11-i) \cdot x_{ci}$$

总计算公式:

$$A. E. = \frac{10}{m} \left(10p - \sum_{i=1}^9 ix_{i+1} \right)$$

1) 黄修明, 赵全生等, 船底防污涂料研制总结报告 (内部资料)。

2) “418”北海协作组, 十五年工作总结 (内部资料)。

表3 11种已知防污效果的防污涂料卤虫实验数据

实验涂料名称	实 验 记 录		实验期间每天卤虫无节幼虫死亡个体数										实验结束时的存活数
	实验序号 ¹⁾	投放卤虫无节幼虫数目	第一天	第二天	第三天	第四天	第五天	第六天	第七天	第八天	第九天	第十天	
L-10-6	1	21	2	4	5	6	4						0
	2	10	0	4	3	3							0
	3	10	0	4	2	2	1	1					0
	4	10	0	4	3	2	1						0
	5	10	0	3	6	1							0
L-29	1	10	0	0	0	7	3						0
	2	10	0	0	2	6	2						0
	3	10	0	0	0	1	3	3	2	1			0
	4	10	0	0	0	4	4	2					0
	5	10	0	0	0	0	7	1	2				0
L-10	1	10	8	2									0
	2	10	7	2	1								0
	3	10	6	4									0
	4	10	6	4									0
	5	10	2	8									0
L-2	1	10	0	0	4	6							0
	2	10	0	3	3	2	2						0
	3	10	0	0	2	6	2						0
	4	10	1	0	0	3	6						0
	5	10	0	0	4	6							0
71-33	1	12	2	2	6	1	1						0
	2	10	2	2	4	2							0
	3	10	4	1	5								0
	4	10	3	5	2								0
	5	10	3	3	3	1							0
L-31	1	10	0	1	3	4	2						0
	2	10	0	0	4	4	2						0
	3	10	0	0	0	4	2	2	1	1			0
	4	10	0	1	0	3	3	3					0
	5	10	0	0	0	0	1	1	3	4	1		0
L-43	1	12	0	0	3	6	1	2					0
	2	10	0	0	2	5	1	2					0
	3	10	0	0	0	5	3	2					0
	4	10	0	0	0	3	7						0
	5	10	0	0	0	0	1	1	2	5	1		0

续表

实验涂料名称	实验记录		实验期间每天卤虫无节幼虫死亡个体数										实验结束时的存活数
	实验序号 ¹⁾	投放卤虫无节幼虫数目	第一天	第二天	第三天	第四天	第五天	第六天	第七天	第八天	第九天	第十天	
L-44	1	10	0	0	2	3	5						0
	2	10	0	0	3	2	4	1					0
	3	10	0	0	0	1	1	2	5	1			0
	4	10	0	0	0	0	10						0
	5	10	0	0	0	0	4	3	3				0
L-10-2	1	10	0	0	1	5	2	2					0
	2	10	0	0	2	4	3	1					0
	3	10	0	0	2	3	3	2					0
	4	10	0	0	0	3	3	4					0
	5	10	0	0	0	1	1	4	4				0
L-10-5	1	11	1	3	5	1	0	1					0
	2	10	2	2	4	1	1						0
	3	10	0	3	7								0
	4	10	0	1	0	6	3						0
	5	10	0	0	0	6	3	1					0
L-42	1	10	0	0	0	4	3	3					0
	2	10	0	0	2	2	2	4					0
	3	10	0	0	5	3	1	1					0
	4	10	0	0	3	4	2	1					0
	5	10	0	0	0	1	1	1	1	3	3		0
对 照	1	10	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	6
	2	10	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	6
	3	10	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	7
	4	10	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	7
	5	10	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	7

1) 实验序号的实验日期: 1. 1979.5.28—6.7; 2. 1979.5.28—6.7; 3. 1979.6.8—6.18; 4. 1982.4.15—4.24; 5. 1982.5.8—5.27。

根据这个计算公式计算上述实验获得的实验数据, 其结果列于表4。

$$\begin{aligned}
 & - \frac{10}{m} \sum_{i=1}^{10} (11-i) \cdot x_{ci} \\
 & = \frac{10}{m} \left[10p - \sum_{i=1}^9 ix_{i+1} \right. \\
 & \left. - \sum_{i=1}^{10} (11-i) \cdot x_{ci} \right]
 \end{aligned}$$

三、讨 论

1. 本实验使用11种已知防污效果的涂料进行防污效果卤虫初选评价实验所得结果: L.

-10最高 (95.6), 依次为 71—33 (80.2), L-10—6 (72.2)……, 最后为 L-44 (41.0)。与

表4 11种已知防污效果的防污涂料卤虫实验数据换算结果

实验涂料名称	配方来源	已知防污有效期(月)	防污效果实验(得分)	平均
L-10—6	自行设计	17	71 81 77 57 75	72.2
L-29	自行设计	12	55 58 40 39 37	45.8
L-10	自行设计	36	98 96 96 96 92	95.6
L-2	自行设计	15	74 65 70 44 67	64.0
71—33	“418” 北海协作组	36	72 84 89 75 81	80.2
L-31	自行设计	12	61 60 46 40 19	45.2
L-43	自行设计	10	50 45 63 40 18	43.2

续表

实验涂料名称	配方来源	已知防污有效期(月)	防污效果实验(得分)	平均
L-44	自行设计	10	55 45 35 37 33	41.0
L-10—2	自行设计	12	43 45 65 36 31	44.0
L-10—5	自行设计	15	72 71 83 46 47	63.8
L-42	自行设计	10	39 40 72 46 19	43.2

A/F已知防污有效期相比较,总的趋势相当一致。我们认为这种方法基本上可以作为A/F防污效果初选评价依据。使用这种方法可以迅速淘汰参加初选防污效果差的配方,能节约一定的人力、物力。文中提出的这种计算公式也能比较好地处理实验结果。

2. 用卤虫作为A/F防污效果评价实验,方法简单方便。比用衣藻 (*Chlamydomonas* sp.) 作为防污涂料渗毒率生物学测定方法 (P. Rivett, 1965) 更为简便,不需要用仪器比色。卤虫在水产养殖应用广泛 (徐恭昭等, 1979; 黄鸣夏等, 1980; 郑严等, 1982; 李茂堂等, 1982), 而且也是进行毒性、毒理实验研究的一种优良实验材料。我国辽宁、河北、山东、江苏、浙江、福建、广东和海南岛沿海均有。材料普遍,采集容易。或可直接向中国粮油进出口公司天津分公司水产科购买冬

卵(小包装每桶 365 克)供实验使用。卤虫生活力强,容易孵化培养。实验过程中毒死亡现象易于鉴别(不像双壳类软体动物那样紧闭双壳难以判断)。卤虫在人工海中亦能孵化生活,这样就能给地处内陆、远离海洋的单位开展防污涂料研制进行初选工作提供方便。

3. 使用这种室内生物实验方法须特别注意: (1) 用卤虫进行 A/F 防污效果评价的实验,结果与实验时的温度有关,一般温度高无节幼虫中毒死亡快,温度低中毒死亡慢。如果实验是在同温下进行,各受试涂料和无节幼虫所受的温度影响是一致的。对相对效果来说仍不失其有比较的意义,或把所有实验都严格地控制在特定的温度条件下进行,就消除了这个实验因子变化带来的差异。(2) 卤虫幼虫孵

化后时间的长短以及它的生理状况对实验结果均有一定的影响。不同生长时间和不同状态的个体对毒力抵抗力不同。因此,在选择实验个体时,要求选择同批孵化后 1—2 天生活正常的无节幼虫,以消除或缩小因实验个体不同所产生的影响。

参 考 文 献

- (1) Costlow, J. D. and R. C. Tipper, 1984. Marine Biodeterioration: An interdisciplinary study. Annapolis, Maryland, pp. 213—290.
- (2) Woods Hole Oceanographic Institution, 1952. Marine fouling and its prevention (U. S. Naval Institute, Annapolis, Maryland) pp. 332—337.

THE PRELIMINARY ASSESSMENT EXPERIMENT OF ANTIFOULING PAINTS USING *Artemia salina* L. AND ITS CALCULATING FORMULA Huang Xiuming, Yin Jiande and Zhang Fengxuan (Institute of Oceanology, Academia Sinica)

Abstract

Comparing the results obtained from raft trials and *Artemia salina* experiment, the present paper offers a laboratory test method for assessment of antifouling paints.

Since no convenient equation are available, the one used in calculation of present case is rather new, simple and with good result:

$$A. E. = R_e - R_c$$

$$\therefore R_e = \frac{10}{m} \left(10p - \sum_{i=1}^9 i x_{i+1} \right)$$

$$R_c = \frac{10}{m} \sum_{i=1}^{10} (11-i) \cdot x_{c i}$$

$$\therefore A. E. = \frac{10}{m} \left[10p - \sum_{i=1}^9 i x_{i+1} - \sum_{i=1}^{10} (11-i) \cdot x_{c i} \right]$$

where A. E. = antifouling efficiency

R_e = the value of experimental antifouling paint

R_c = the value of parallel experiment

m = the total number of *Artemia salina* used in experiment

p = the total number of dead individuals at the end of experiment

x_i = the daily dead number of individuals