

# 孔雀绿对中国对虾各期幼体急性毒性试验

郭 平 许美美

(辽宁省海洋水产研究所, 大连 116023)

孔雀绿 (Malachite) 也叫苯甲醛绿 (Benzaldehyde green), 是一种三苯甲烷染料, 分子式为  $C_{23}H_{25}N_2Cl$ ; 通常应用的商品为其草酸盐  $2(C_{23}H_{25}N_2) \cdot 3C_2H_2O_4$ 。

在目前中国对虾人工育苗过程中, 应用孔雀绿治疗虾卵孵化过程中的真菌侵袭, 防治各期幼体的真菌病较为广泛。但是, 孔雀绿对各期幼体的毒性, 至今尚未见报道。本文通过孔雀绿对对虾受精卵、各期幼体的急性毒性试验, 研究孔雀绿各期幼体的半致死浓度和安全浓度, 为在生产中的应用提供参考数据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验动物

胚胎(e)为发育至原肠期的受精卵, 细吸管吸出, 每组 150 粒。以空白对照组的孵化率折算各试验组的孵化率。无节幼体(N)为变态进入第二期的健壮个体, 吸管选出, 每组 20 尾。蚤状幼体(Z), 糠虾幼体(M)和仔虾幼体(P)均为变态进入相应第一期的健壮个体, 每组 10 尾。容器为 500ml 烧杯, 加水 400ml。均设平行组。

### 1.2 试验浓度设置

孔雀绿系市售生物染色剂。按 0.6~0.7 等对数间隔配制溶液浓度。

### 1.3 试验用水

试验用水系对虾育苗用自然海水, 盐度为 31 左右, pH 为 8.3 左右。水温控制在对虾育苗生产中各期幼体的相应温度。定时充气。试验期间蚤状幼体、糠虾幼体和仔虾幼体投喂适宜的饵料。

### 1.4 数据处理

求死亡率与毒物浓度对数的回归方程, 并通过回归方程估算 50% 死亡的浓度值(LC<sub>50</sub>)。通过公式计算安全浓度。用 *F* 检验回归方程的相关性。

## 2 结 果

### 2.1 受精卵在不同孔雀绿浓度中的孵化率

通常情况下, 自原肠期到无节幼体出膜约需 24h; 本实验计算孵化率截止于实验开始后的 40h, 无节幼体出膜均认为孵化, 其结果如表 1。

表 1 受精卵在不同浓度孔雀绿中的孵化率

浓度( $\times 10^{-6}$ )	0	0.012	0.024	0.048	0.096	0.192	0.384	0.768	1.53
孵化率(%)	100.0	93.8	84.1	63.4	33.7	31.7	14.4	9.6	0

2.2 各期幼体在不同浓度孔雀绿中的死亡率 率,其结果见表 2 和表 3。

实验开始后 24h 和 48h,分别计数各期幼体的死亡

表 2 各期幼体在不同浓度孔雀绿中的死亡率(24h)

浓度( $\times 10^{-6}$ )	0(对照)	0.012	0.024	0.048	0.096	0.192	0.384	0.768
N	0	2.8	16.2	29.7	73.0	97.3	100.0	/
Z	0	5.3	10.5	21.1	31.6	42.2	68.4	100.0
M	0	5.0	18.4	31.6	47.4	52.6	89.5	100.0
P	0	5.2	15.8	23.1	42.1	45.7	89.5	100.0

表 3 各期幼体在不同浓度孔雀绿中的死亡率(48h)

浓度( $\times 10^{-6}$ )	0	0.012	0.024	0.048	0.096	0.192	0.384	0.768
N	0	4.0	18.0	37.8	78.4	100.0	/	100.0
Z	0	8.3	21.1	31.6	36.8	42.2	/	
M	0	10.5	21.2	34.3	48.2	56.3	90.1	100.0
P	0	8.1	19.6	31.3	39.8	57.9	89.5	89.5

表 4 各期幼体在不同浓度孔雀绿中的变态率

浓度 $\times 10^{-6}$	0	0.012	0.024	0.048	0.096	0.192	0.384
N	100	83.7	70.3	62.1	21.6	0	/
Z	100	78.9	68.4	63.2	21.1	0	/
M	100	78.1	67.8	52.6	26.3	10.5	0

2.3 各期幼体在不同浓度孔雀绿中的变态率

延续实验,观察存活个体的变态情况,至 96h 后结束。各期幼体在不同浓度孔雀绿中的变态率见表 4。

2.4 孔雀绿对各期幼体的半致死浓度、安全浓度和回归的显著性检验

求死亡率与毒物浓度的对数回归方程,通过回归方程估算半致死浓度,并通过计算安全浓度公式计算安全浓度见表 5。

表 5 各期幼体的半致死浓度及安全浓度( $\times 10^{-6}$ )

幼体	24hLC <sub>50</sub>	48hLC <sub>50</sub>	安全浓度 <sup>1)</sup>
e	0.085	(0.045)	0.0038
N	0.062	0.051	0.0103
Z	0.117	0.116	0.0217
M	0.099	0.089	0.0216
P	0.113	0.100	0.0235

$$\text{安全浓度} = \frac{48\text{hLC}_{50} \times 0.3}{(24\text{hLC}_{50} / 48\text{hLC}_{50})}$$

应用 F 检验对回归方程的相关性进行了检验,其结果显示,在 99%水平上,相关是极为显著。见表 6。

表 6 回归显著性检验

幼体	24h				48h			
	r	n	$F_{0.01}(1, n-2)$	f	r	n	$F_{0.01}(1, n-2)$	F
e	0.977 6	8	11.26	129.45	0.9693	5	16.26	46.62
N	0.974 2	6	13.74	74.53	0.9849	5	16.26	97.09
Z	0.956 9	7	12.25	54.28	0.9520	7	12.25	48.36
M	0.982 4	7	12.25	138.31	0.9835	7	12.25	147.78
P	0.964 5	7	12.25	66.70	0.9694	7	12.25	77.97

注: r—相关系数;  $F > F_{0.01}(1, n-2)$  时, 推断为极显著。

### 3 讨论

孔雀绿在许多国家都已广泛应用于鱼虾类真菌性疾病的预防和治疗, 获得了较好的效果。Lightner (1977) 对各种对虾幼体一般用  $0.06 \times 10^{-6}$  作长期药浴。<sup>[6]</sup>Bland 等 (1976) 对加州对虾 (*Penaeus californiensis*) 蓝对虾 (*P. stylirostris*) 和万氏对虾 (*P. vannamei*) 的幼体, 也是用  $0.06 \times 10^{-6}$  药浴 24h, 提高了患链壶菌病的蚤状期的幼体的成活率。<sup>[3]</sup>Johnson (1974) 对桃红对虾 (*P. duorarum*) 的幼体是用  $0.64 \times 10^{-6}$  药浴不超过 96h<sup>[5]</sup> 等用于黄道蟹等的浓度是  $5 \sim 10 \times 10^{-6}$  等等<sup>[4]</sup>。孔雀绿在用于海产甲壳类及其幼体的真菌病治疗, 使用的浓度差别很大。关于孔雀绿对甲壳类动物的毒性, 仅见到首长黄道蟹 (*Cancer magister*) 幼体 48h 的半致死浓度为  $0.12 \times 10^{-6}$ ; 96h 的半致死浓度为  $0.02 \times 10^{-6}$ <sup>[2]</sup>。

本实验研究了孔雀绿对中国对虾各期幼体的急性毒性, 结果显示, 浓度愈高, 毒性愈大; 出现死亡的时间早, 死亡率增长快, 如表 1, 2, 3 所示。各期幼体在毒物中的变态率与其死亡率的变化亦相同, 只是变态率比存活率更低些, 如表 4。各期幼体的 24h 半致死浓度在  $0.06 \sim 0.15 \times 10^{-6}$  之间, 48h 半致死浓度在  $0.05 \sim 0.12 \times 10^{-6}$  之间。对毒物的耐受性从受精卵至仔虾基本上呈现依次增强的趋势。但是从半致死浓度看, 蚤状幼体似乎承受力强些。表 5 计算出了各期幼体的安全浓度; 其安

全浓度值在  $0.01 \sim 0.02 \times 10^{-6}$  之间。作者曾在对虾育苗工作的受精卵孵化过程中施用  $0.02 \times 10^{-6}$  的孔雀绿抑制真菌对卵子的侵袭, 收到了比较满意的效果, 可明显地提高受精卵的孵化率; 特别是在链壶菌和海壶菌孢子较多的育苗地点, 效果更佳。由此认为, 在中国对虾育苗过程中, 防治真菌性疾病, 施用  $0.02 \times 10^{-6}$  的孔雀绿是安全的。

孔雀绿的毒性与浸溶时间, 海水 pH 值及温度等都有直接关系。有人证明, 高温可使其毒性增强, 高 pH 值减弱其毒性。但是对于中国对虾是否也存在这方面的影响, 有待于进一步的研究证实。

#### 参考文献

- [1] 孟庆显, 1983. 山东海洋学院学报 13(4): 88~93.
- [2] Armstrong D. A., Buchanan D. V. and Caldwell R. S., 1976. *J. Invertebr. Pathol.* 28: 329-336.
- [3] Bland C. E., Ruch D. G., Salser B. R. and Lightner D. V., 1976. *Sea Grant Publ. No UNG-SG-76-02.* 38.
- [4] Fisher W. S., Rosemark T. R. and Shleser R. A., 1976. *Aquaculture* 8: 151-156.
- [5] Johnson S. K., 1974. Toxicity of several mangement chemicals to penaeid shrimp. Texas A & M University. No. FD-DL-S3, 12.
- [6] Lightner D. V., 1977. Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture. Elsevier Sci. Publ. Co., Amsterdam, 36-41.