

# 几种消毒剂对中国对虾受精卵和无节幼体的影响研究

## THE INFLUENTIAL STUDIES OF SEVERAL DISINFECTANTS TO THE EGGS AND NAUPLIUS OF PENAEUS CHINENSIS

潘鲁青

(青岛海洋大学 266003)

作者曾报道<sup>[1]</sup>过几种药物对受精卵消毒的初步试验,有效地减少了对虾育苗期各种疾病的发生。本文主要从应用角度进一步筛选对受精卵和无节幼体毒性小,对病原生物作用强的药物。

### 1 材料和方法

#### 1.1 实验材料

实验所用中国对虾受精卵和无节幼体,均取自海捕亲虾产的受精卵和孵化的无节幼体。实验使用消毒剂有漂粉精(含有效氯 61%,青岛红旗化工厂生产)、优氯净(含有效氯 64%,滕州有机化工厂生产)、安替福民(含有效氯 15%,青岛化工厂生产)、磺仿、磺伏(上海新谊化工厂生产)和路哥氏碘液。

#### 1.2 实验方法

消毒剂配制是先用蒸馏水配成  $1\ 000 \times 10^{-6}$  溶液,然后稀释至实验浓度梯度。每次实验均设对照组和 2 个平行样品。

##### 1.2.1 消毒剂对受精卵和无节幼体的影响实验

实验容器为 500ml 烧杯,内装 400ml 过滤海水,放置在自制的控温箱内,消毒后受精卵的孵化和无节幼体的培育水温分别为 18~19℃ 和 22~23℃。海水盐度为 28~30, pH 为 8.3~8.5,化学耗氧量为 3.0~3.5mg/l。实验过程中不充气、不换水。

消毒方法为:收集受精卵或无节幼体→干净海水冲洗→消毒剂浸泡 1min→干净海水冲洗→放入烧杯。实验中每个烧杯放入 50 粒受精卵或 50 尾无节幼体(II~III 期),48h 后计数,并对两个平行样品求和分别作为对照组和实验组的数据。

##### 1.2.2 消毒受精卵和无节幼体对表面病原菌的杀灭作用

取 30 粒受精卵或 30 尾无节幼体,用一定浓度的消毒剂浸泡 1min,然后取出用 10ml 无菌海水反复冲洗,吸取 0.1ml 冲洗液,按涂布平板菌落计数法分别接种在 2216E, TCBS 和 PYG3 种培养基上,常温(14~

16℃)下,培养 48h 后,取平行样品的平均菌落数。

##### 1.2.3 消毒受精卵对孵化率和幼体成活率的影响

在对虾育苗过程中,用 120 目网袋(40cm×25cm)盛取一定数量的受精卵,采用上述消毒方法,向对照池和实验池(均为 42m<sup>3</sup>)布卵,密度为 400 000 粒左右,共实验 2 批受精卵,孵化培育至出苗,计数受精卵的孵化率和幼体成活率。

#### 1.3 实验数据的统计分析

本实验运用统计上的卡方( $\chi^2$ )检验<sup>[2]</sup>,比较实验组和对照组受精卵的孵化率和无节幼体的成活率、变态率有无显著性差异。其公式为:

$$\chi^2 = \frac{100(\sum Px - \bar{P}\sum x)}{\bar{P}(100 - \bar{P})}$$

其中  $\bar{P}$  为对照组和实验组平均孵化的百分数或平均成活和变态的百分数; $P$  为每组孵化或成活、变态的百分数; $x$  为每组孵化或成活、变态的幼体数。

所得  $\chi^2$  值与  $n=1, \chi_{0.05}^2 = 3.841$  相比较。若  $\chi^2 > \chi_{0.05}^2$ , 则差异显著,表示消毒受精卵或无节幼体对孵化率或成活率、变态率有显著影响;若  $\chi^2 < \chi_{0.05}^2$ , 则差异不显著,表示消毒受精卵和无节幼体对孵化率或成活率、变态率无显著影响。

### 2 实验结果

#### 2.1 消毒剂对受精卵和无节幼体的影响实验

实验结果表明,中国对虾受精卵和无节幼体对不同消毒剂耐受力不同,而且受精卵的耐受力比无节幼体强。消毒无节幼体对变态率的影响比成活率更为明显。卡方检验表明,各种消毒剂消毒受精卵和无节幼体可以使用的浓度,如漂粉精消毒受精卵或无节幼体可以使用的安全浓度分别为  $7.0 \times 10^{-6}$  和  $2 \times 10^{-6}$ ;路哥氏碘液消毒的安全浓度分别为  $300.0 \times 10^{-6}$  和  $0.5 \times$

收稿日期:1995 年 11 月 6 日

10<sup>-6</sup>。同时实验还观察到对受精卵消毒后,孵化的无节幼体发育正常;经消毒的无节幼体变态为蚤状幼体后发育正常,尚未变态的无节幼体粘脏、沉底,不久死亡。

## 2.2 消毒受精卵和无节幼体对表面病原菌的杀灭作用

表 1 含氯消毒剂对受精卵孵化率及对无节幼体成活率和变态率的影响

含氯消毒剂		卵化率(%)		含氯消毒剂		成活率(变态率)(%)	
浓度( $\times 10^{-6}$ )	漂粉精	优氯净	安替福民	浓度( $\times 10^{-6}$ )	漂粉精	优氯净	安替福民
0.0	68	68	68	0.0	92(90)	92(90)	92(90)
1.0	61	65	/	0.5	90(86)	89(85)	91(87)
3.0	63	61	/	1.0	88(83)	86(81)	85(82)
5.0	60	61	66	2.0	84(81)	84(77 <sup>*</sup> )	89(83)
7.0	56	59	61	3.0	76 <sup>**</sup> (70 <sup>**</sup> )	80 <sup>**</sup> (71 <sup>**</sup> )	86(81)
10.0	44 <sup>*</sup>	50 <sup>*</sup>	58	4.0	67 <sup>**</sup> (60 <sup>**</sup> )	74 <sup>**</sup> (58 <sup>**</sup> )	84(79 <sup>**</sup> )
12.0	32 <sup>*</sup>	39 <sup>*</sup>	55	5.0	56 <sup>**</sup> (44 <sup>**</sup> )	61 <sup>**</sup> (38 <sup>**</sup> )	76 <sup>**</sup> (65 <sup>**</sup> )
15.0	28 <sup>*</sup>	31 <sup>*</sup>	46 <sup>*</sup>	/	/	/	/

注: \* 表示卡方检验显著; \*\* 无节幼体变态率为已变态存活的蚤水幼体占放入幼体总数的百分率。下表同。

表 2 含碘消毒剂对受精卵孵化率及对无节幼体成活率和变态率的影响

含碘消毒剂		卵化率(%)		含碘消毒		成活率(变态率)(%)	
浓度( $\times 10^{-6}$ )	碘仿	路哥氏碘液	碘伏	浓度( $\times 10^{-6}$ )	碘伏	路哥氏碘液	碘优
0.0	61	61	61	0.0	90(86)	90(86)	90(86)
10.0	56	/	/	0.1	87(82)	86(80)	89(80)
50.0	48	63	56	0.5	83(77)	88(83)	85(78)
100.0	41 <sup>*</sup>	60	57	1.0	73 <sup>**</sup> (70 <sup>**</sup> )	82(75 <sup>**</sup> )	82(76)
200.0	36 <sup>*</sup>	56	51	2.0	65 <sup>**</sup> (51 <sup>**</sup> )	75 <sup>**</sup> (65 <sup>**</sup> )	81(68 <sup>**</sup> )
300.0	/	49	45 <sup>*</sup>	3.0	49 <sup>**</sup> (36 <sup>**</sup> )	68 <sup>**</sup> (52 <sup>**</sup> )	75 <sup>**</sup> (60 <sup>**</sup> )
400.0	/	41 <sup>*</sup>	39 <sup>*</sup>	4.0	41 <sup>**</sup> (30 <sup>**</sup> )	49 <sup>**</sup> (41 <sup>**</sup> )	70 <sup>**</sup> (57 <sup>**</sup> )
500.0	/	32 <sup>*</sup>	36 <sup>*</sup>	/	/	/	/

表 3 消毒受精卵对表面病原菌数量的测定

培养基名称	菌落数(个)						
	对照 ( $0.0 \times 10^{-6}$ )	漂粉精 ( $5.0 \times 10^{-6}$ )	优氯净 ( $5.0 \times 10^{-6}$ )	安替福民 ( $10.0 \times 10^{-6}$ )	碘仿 ( $50.0 \times 10^{-6}$ )	路哥氏碘液 ( $200.0 \times 10^{-6}$ )	碘伏 ( $200.0 \times 10^{-6}$ )
2216E	250	16	21	30	27	32	14
TCBS	85	11	8	8	4	6	27
PYG	11	2	3	5	2	4	3

注: 消毒时间为 1 min, 表 4 同。

表 4 消毒无节幼体对表面病原菌数量的测定

培养基名称	菌落数(个)						
	对照 ( $0.0 \times 10^{-6}$ )	漂粉精 ( $2.0 \times 10^{-6}$ )	优氯净 ( $1.0 \times 10^{-6}$ )	安替福民 ( $3.0 \times 10^{-6}$ )	碘仿 ( $0.5 \times 10^{-6}$ )	路哥氏碘液 ( $0.5 \times 10^{-6}$ )	碘伏 ( $1.0 \times 10^{-6}$ )
2216E	133	39	45	70	35	59	52
TCBS	60	15	27	24	19	41	36
PYG	7	4	5	5	4	6	5

从表 3、表 4 可看出,在对受精卵孵化率和无节幼体成活率、变态率无显著影响的前提下,消毒剂在一定

浓度下,对表面病原菌具有一定的杀伤作用,而且不同的消毒剂对细菌和真菌有不同的杀菌效果。由此我们

可以根据不同的情况,有针对性地选择某种消毒剂对受精卵或无节幼体进行消毒处理,以达到预防疾病的目的。

## 2.3 消毒受精卵对孵化率和幼体成活率的影响

表 5  $5 \times 10^{-6}$  漂粉精和  $200 \times 10^{-6}$  碘伏分别消毒受精卵 1m in 对孵化率和幼体成活率的影响

组别	池号 (42m <sup>3</sup> /池)	受精卵总数 ( $\times 10^4$ 粒)	无节幼体总数 ( $\times 10^4$ 尾)	孵化率 (%)	出苗总数 ( $\times 10^4$ 尾)	幼体成活率 (%)
对照组	5, 6	3 000	2 300	76.67	875	38.04
$5.0 \times 10^{-6}$ 漂粉精	4, 12	3 600	2 700	75.00	1 275	47.22
$200.0 \times 10^{-6}$ 碘伏	7, 11	3 400	2 500	73.53	1 328	53.12

注: 幼体成活率为孵化出无节幼体总数占出苗总数的百分率。

由表 5 可知, 使用  $5.0 \times 10^{-6}$  漂粉精和  $200.0 \times 10^{-6}$  碘伏消毒受精卵 1m in, 幼体成活率比对照组分别高 9.18% 和 15.08%。这表明采用消毒受精卵的方法不仅对孵化率和幼体生长发育无不良影响, 还可以提高幼体成活率, 有效地防止对虾育苗过程中病害的发生。通过对实验组各期幼体组织学切片观察, 均未发现有异常现象, 而且经养成期跟踪调查, 对虾生长发育正常。因此, 对受精卵进行消毒处理是有效的、可行的。

## 3 讨论

3.1 含氯和含碘消毒剂是一类广谱高效地消毒杀菌药物, 对病毒、原虫等病原生物也有较强的杀灭作用, 同时它们还具有毒性低、降解完全、无蓄积作用、病原生物不易产生耐药性等特点, 非常适合对受精卵和无节幼体进行消毒处理。从实验结果看, 采用这类消毒剂消毒受精卵或无节幼体, 在一定浓度范围内对受精卵的孵化率或无节幼体的成活率、变态率无显著影响, 而且不产生任何副作用, 对表面病原菌也有一定的杀伤作用。因此, 这类消毒剂是消毒受精卵和无节幼体的理想药物。

3.2 值得注意的是消毒剂在海水中受多种因子的影响不稳定。据王勇强报道<sup>[3]</sup>, 有机物含量增加, 温度上升, pH 下降均能加速有效氯的丧失, 引起杀菌力下降。因此, 在中国对虾育苗过程中, 使用消毒剂应首先分析海水的理化性质, 采用安全可靠的浓度对受精卵和无节幼体进行消毒处理。

3.3 在鱼类病毒病的防治中, 使用消毒剂对受精卵进行消毒处理已被广泛使用, 并取得一定的效果<sup>[4]</sup>。据桃山和夫报道<sup>[5]</sup>, 含氯和含碘消毒剂可使日本对虾 (*Penaeus japonicus*) 中肠腺坏死病毒 (BMN) 不活化, 采用消毒剂对受精卵进行消毒处理, 可以有效地防止 BMN 病毒病的发生。另据陈秀南报道<sup>[6]</sup>, 斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 杆状病毒病 (MBV) 的主要传染源是亲虾及其粪便和肠细胞碎片, 采用福尔马林和碘伏对受精卵或无节幼体进行消毒处理, 能有效地抑制 MBV 病毒病的发生。由此可见, 针对目前中国对虾养成遭受严重的传染性病毒病危害的状况, 在中国对虾苗种生产中采用含氯和含碘消毒剂对受精卵和无节幼体进行消毒处理的方法是预防对虾病毒病的有效手段, 应引起足够重视。

## 参考文献

- [1] 潘鲁青, 1994. 海洋湖沼通报 1: 62~ 67.
- [2] 王鉴明, 1988. 生物统计学. 农业出版社, 115~ 117.
- [3] 王勇强, 1992. 青岛海洋大学学报 22(4): 103~ 109.
- [4] 黄琪琰、宋承方, 1990. 鱼病防治实用技术. 农业出版社, 8~ 18.
- [5] 桃山和夫、郭文泽, 1992. 海水养殖 1、2 期合刊: 85~ 89.
- [6] Chen, S. N., et al., 1992. The Oceanic Institute: 177-184.