

中国对虾人工越冬和卵巢催熟正交 实验报告*

张伟权

(中国科学院海洋研究所)

海水的温盐度、pH 值、溶解氧、氨氮含量,光照以及饵料质量、病原体感染和环境惊扰等,都可能是直接或间接影响对虾越冬存活率和卵巢发育的因子。通过研究其中有些因子的作用^[1],初步取得了一些结果,而有些尚需要进行较深入的探讨。

实验以中国对虾 (*Penaeus orientalis* Kishinouye^[2]) 为材料进行了多因子正交探讨,所得结果为确定对虾越冬最佳工艺条件提供科学依据。

一、实验材料与常规水质因子控制

1. 实验自1980年12月26日到1981年3月10日进行。所用对虾取自当年人工养殖池。为尽量减少实验过程中可能出现的系统误差,实验材料经统一挑选,规定雌虾体长14 cm左右(卵巢均未发育)、雄虾12 cm左右。考虑到本实验的特殊需要,所有对虾均经轻度的褐斑病感染。

2. 试验容器为附有通气和控温装置的圆形聚脂水槽、容水量8吨级。实验开始时各池对虾的投放数量见表1。入池对虾的雌雄比例大致为3:1。

3. 由于某些水环境因子的作用已比较清楚,为简化试验不再将其列为观察内容,而只把它们统一在目前认识水平所及的最佳范围之内,即:盐度30—34‰,溶解氧6 ppm以上,pH值 8 ± 0.2 ,氨氮(以 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 计)小于0.1 ppm,其它重金属离子和有机毒物等的

表 1

对虾数量 性别	池号							
	1	2	3	4	5	6	7	8
♀	29	29	29	29	27	29	29	29
♂	10	10	10	9	10	10	10	10
合计	39	39	39	38	37	39	39	39

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第965号。

本文承曾呈奎、刘瑞玉研究员鼓励支持,李冠国教授、楼子康副研究员审阅并提出修改意见,黄叔平同志在实验过程中给予协助,谨此一并致谢。

1) *Penaeus (Fenneropenaeus) chinensis* (o'sbeck), 1765^[3].

收稿日期: 1982年8月3日。

含量都控制在国家渔业水质标准规定的限值以内。

二、实验设计

1. 实验因子的确定

确定下述诸因子为越冬正交试验的配伍对象：(1) 水温；(2) 光照条件；(3) 环境惊恐；(4) 饵料及投饵方式；(5) 越冬褐斑病感染和药物治疗。

2. 实验因子的水平

在上述五个因子中,选定水温为主比因子,其余为配比因子。主比因子为 4 水平,配比因子皆为 2 水平(见表 2)。

表 2

因子 水平	水 (A) 温	环境惊恐 (B)	光 (C) 照	褐斑病控制 (D)	饵料及投饵方式 (E)
1	7—9°C	惊 恐	暗(200勒以内)	投孔雀石绿	两种饵料交替投喂*
2	9—11°C	非惊恐	亮(1000勒以外)	不投孔雀石绿	投单种饵料
3	11—13°C				
4	5—7°C				

* 两种饵料是冰冻乌贼和沙蚕,单种饵料是冰冻沙蚕。

3. 正交表的选定

本实验选用 $L_8(4 \times 2^4)^{[1]}$ 正交表安排实验(见表 3)。

表 3 $L_8(4 \times 2^4)$ 正交用表

列号 试验号	1	2	3	4	5
1	1	1	1	1	1
2	1	2	2	2	2
3	2	1	1	2	2
4	2	2	2	1	1
5	3	1	2	1	2
6	3	2	1	2	1
7	4	1	2	2	1
8	4	2	1	1	2

表头设计

列号 因子数	1	2	3	4	5
5	A = 水温	B = 环境惊恐	C = 光照	D = 褐斑病控制	E = 饵料及投饵方式

4. 观察指标确定

本试验的最终指标有三项,即: (1)越冬对虾的存活率; (2)越冬雌虾卵巢发育速度; (3)对虾褐斑病的治愈情况。

5. 实验数据的统计计算 (见表 4)

表 4 中 $K_{1 \rightarrow 4}$ 分别为各列中各存活率的对应实验数据之和; $\bar{k}_{1 \rightarrow 4}$ 分别为 $K_{1 \rightarrow 4}$ 之平均值 (即 $\bar{k}_{1 \rightarrow 4}(A) = \frac{K_{1 \rightarrow 4}(A)}{2}$, $\bar{k}_{1 \rightarrow 4}(B \rightarrow E) = \frac{K_{1 \rightarrow 4}(B \rightarrow E)}{4}$)。

表 4 越冬正交试验存活率计算表

试验号	列号	A (1)	B (2)	C (3)	D (4)	E (5)	存活率(%)		合
							♀	♂	
No. 1		1	1	1	1	1	100	90	97.4
No. 2		1	2	2	2	2	100	100	100
No. 3		2	1	1	2	2	100	100	100
No. 4		2	2	2	1	1	100	80	94.7
No. 5		3	1	2	1	2	91.3	90	92.3
No. 6		3	2	1	2	1	93.1	100	94.9
No. 7		4	1	2	2	1	86.2	0	64.1
No. 8		4	2	1	1	2	77.1	50	70.3
K_1	♀	200.0	377.5	370.2	368.4	379.3			
	♂	190.0	280.0	340.0	310.0	270.0			
	合	197.4	353.8	362.6	354.9	351.3			
K_2	♀	200.0	370.2	377.5	379.3	368.4			
	♂	180.0	330.0	270.0	350.0	340.0			
	合	194.9	360.1	351.3	359.0	362.6			
K_3	♀	184.4							
	♂	190.0							
	合	187.2							
K_4	♀	163.3							
	♂	50.0							
	合	134.4							
\bar{k}_1	♀	100.0	94.4	92.6	92.1	94.8			
	♂	95.0	70.0	85.0	77.5	67.5			
	合	98.7	88.5	90.7	88.7	87.8			
\bar{k}_2	♀	100.0	92.6	94.4	94.8	92.1			
	♂	90.0	82.5	67.5	87.5	85.0			
	合	97.5	90.0	87.8	89.8	90.7			
\bar{k}_3	♀	92.2							
	♂	95.0							
	合	93.6							
\bar{k}_4	♀	81.7							
	♂	25.0							
	合	67.2							

三、实验结果

通过正交试验和有关计算, 三项指标的最终结果归纳如表 5。各因子与存活率的关系见图 1。

表 5

试验号	越冬存活率(%)									褐斑病痊愈率	雌虾卵巢发育程度(1—3级)*
	开始虾数			结束虾数			存活率				
	♀	♂	合	♀	♂	合	♀	♂	合		
No. 1	29	10	39	29	9	38	100	90	97.4	100% 痊愈	2级多, 1级少
No. 2	29	9	38	29	9	38	100	100	100	病情有发展	2级少, 1级多
No. 3	29	10	39	29	10	39	100	100	100	病情有发展	2级多, 3级少
No. 4	29	10	39	29	8	37	100	80	94.9	100% 痊愈	2级少, 3级多
No. 5	29	10	39	27	9	36	91.3	90	92.3	100% 痊愈	3级(升温至 18℃ 后分别于第 9、13 天产卵)
No. 6	29	10	39	27	10	37	93.1	100	94.9	病情有发展	3级、2级
No. 7	29	10	39	25	0	25	86.2	0	64.1	病情有发展	1级(卵巢不发育)
No. 8	27	10	37	21	5	26	77.1	50	70.3	100% 痊愈	1级(卵巢不发育)

* 本试验规定: 1级——卵巢未发育, 纤细, 无色透明, 重量小于 2 克;
2级——卵巢增大, 头叶达到额角基部附近, 黄绿色;
3级——卵巢饱满, 其头叶超出额角基部, 卵巢表面出现龟裂纹, 绿色, 但未成熟。

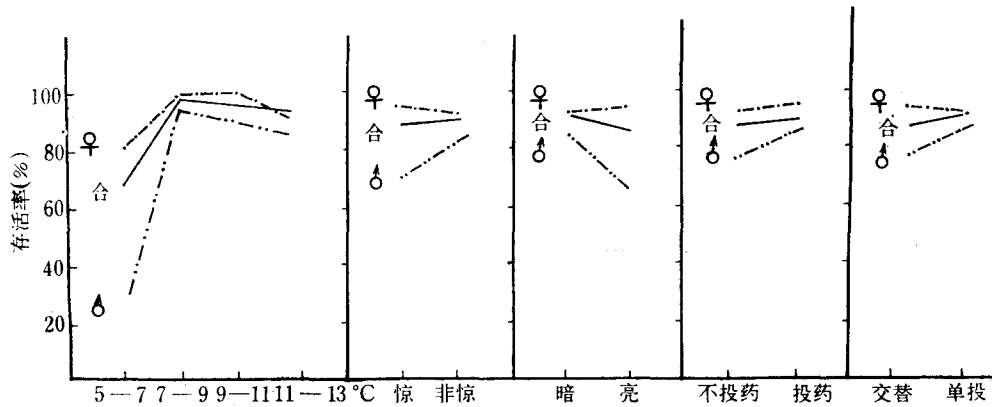


图 1 因子与对虾越冬存活率的关系

四、实验结果的直观分析

从上列结果和关系图可初步看出:

1. 水温对越冬对虾存活率的影响起主导作用。在本实验条件下, 存活率(合)¹⁾在 5—7℃ 时为 64.1—70.3%; 在 7—9℃ 和 9—11℃ 的最高可达 100%; 超过 11℃ 后则有下降的趋势 (11—13℃ 时波动范围在 92.3—94.9%)。温度条件对越冬存活率的主导影响还

1) 指雌、雄个体相加的平均值。

表 6 不同因子条件的极差值比较

极差($\bar{k}_{\max} - \bar{k}_{\min}$) 性别	因素				
	A (水温)	B (环境惊恐)	C (光照)	D (褐斑病)	E (饵料)
♀	18.3	1.8	1.8	2.7	2.7
♂	70.0	12.5	17.5	10.0	17.5
合	31.5	1.5	2.9	1.1	2.9

可以通过极差运算得到进一步证实(见表 6)。

从表 6 可以看出,水温极差中 $\bar{k}_{A\max} - \bar{k}_{A\min}$ 分别为 ♀18.3, ♂70.0, 合为 31.5, 而其它诸因素(B, C, D, E)的极差值在任何情况下最高都不超出 17.5, 最小的仅 1.1(D 合)。

2. 在正交实验规定的范围内,温度越高,卵巢发育的速度越快。5—7°C 时,卵巢未见发育;7—9°C 和 9—11°C 时卵巢发育多数进入第 2 期(级);11—13°C 时大部分进入第 3 期(级)。

3. 环境惊恐、光照和投饵方式等对越冬期雌虾存活率的直接影响不明显,但对雄虾的作用比较清楚(见表 6, 图 1)。

4. 用孔雀石绿(Malachite Green)治疗越冬期对虾褐斑病有明显的效果,治愈率可达 100%。

五、讨 论

1. 中国对虾在黄海北部自然海区的越冬水温范围大体变动在 8—12°C 之间。上述试验得出的最适范围是 7—11°C。两者基本接近。作者在同年另一观察实验中发现,当海水温度从 7°C 逐渐降低到 4.5°C 时,对虾便开始侧倒(5°C 时无此现象)。2°C 时绝大多数个体僵卧不动(短时期内升温后可复苏)。0°C 时当即死亡。

值得注意的是,越冬期内,雄虾对于环境变化的适应能力远较雌虾为小。因此,其死亡率也常较雌虾高得多,尤以低温的影响最明显(见图 1),当越冬水温长期维持在 5—7°C 时,大部分雄虾都不能正常生活。例如, No. 7 的对虾,在所有条件完全相同的情况下(水温 5—7°C、惊恐、明亮和未作药物治疗),雌虾的存活率是 86.2%, 而雄虾在此条件下无一存活。在上述实验中,水温从原来的 6.1°C 上升到 8.5°C 时(每隔 10 分钟升温 1°C)雄虾便开始出现不安;12.4°C 时侧倒。而雌虾对升温的适应能力要强,在同样情况下到 12°C 时才会有上述不安现象出现(见表 7)。

值得提出的是,由于上述热冲击而引起的对虾不安、侧倒等反常行为,能借助剧烈的池内通气而得到一定程度的缓解。看来,充足的氧气供应除了能保证对虾基本生命活动外,还可以提高它们对环境条件突然变化的适应能力。

从正交实验的结果看,对虾在 9—11°C 和 11—13°C 条件下连续饲养 70 天后(进入 2 月份),将水温进一步提高到 18°C(每天增温 1°C,到 18°C 后恒温),其卵巢迅速增大,颜色也由原来的浅绿色很快变为绿色或褐绿色,并且分别都在十几天内产卵(最快的仅 9 天),较自然繁殖期的产卵时间大约提早了 60 天左右。但越冬期温度偏高则会出现一些不利

的后果,最常见的是对虾蜕皮和使池内单胞藻类大量繁生。前一种情况在越冬早期水温超过 14℃ 时最易发生。由于蜕皮时精荚丢失,加上刚蜕皮后的个体体质较弱,常常会因互食等原因使存活率下降。

2. 池内出现大量藻类能减弱光照的明亮度,使亲虾有一个良好的隐蔽环境。但其最

表 7 越冬期水温变化与对虾适应情况(观察 100 尾, $s = 34\%$)

水温变化	7℃	5℃	4.5℃	2℃	0℃	6.1℃	8.5℃	9.7℃
对虾状态	生活水温	活动能力变弱	1/3 侧倒	4/5 僵卧但心脏跳动	无一存活	生活水温	雄虾开始躁动,不安	雄虾躁动雌虾静息
水温变化	10.3℃	10.7℃	12.0℃	12.4℃	12.9℃ (强烈通气)			
对虾状态	雄虾屈体、抱尾,雌虾静息	雄虾横游、转圈,雌虾静息	雄虾侧倒,雌虾开始不安	雄虾侧倒,雌虾屈身、抱尾	雌雄对虾皆恢复常态			

大缺点是使海水的能见度明显下降,再加上过量的藻类繁生会导致水体 pH 值升高,使越冬期的管理工作变得被动。从正交实验各池的对比结果看来,池内光照强度控制在 200 勒以内(例如 No. 1, 3, 5, 6)或者水温不超过 11℃(例如 No. 1, 2, 5, 7)时,都能有效地遏制一般藻类生长。如果能把这两种方法联合使用,则既能满足对虾越冬的温度要求,还可以使海水变得清澈透明,便于准确掌握对虾的生活状态。目前,光照作为影响亲虾卵巢发育的限制因素之一已引起注意。据 Aquacup^[4] 报道:“…透光率只有 10% 的水槽内饲养墨吉对虾 (*Penaeus merguensis*) 时,其卵巢的成熟程度要比 40% 的为好”。W. Clark^[5] 也曾指出,光照强度、光周期和波长对卵巢发育的作用,其潜力要比切除对虾眼柄者大。目前一些作者认为:黑暗或弱光对促进对虾卵巢发育有利。但从我们的正交实验结果来看,其影响并不十分明显。原因还不太清楚。不过就其作用的另一方面而论,弱光或黑暗有利于稳定对虾越冬的生活环境,间接地对促进卵巢发育还是有好处的。

3. 越冬期内,虾病蔓延是导致对虾大批死亡的重要原因。其中尤以对虾褐斑病最为常见。据 Johnson 和 Sindermann 报道^[5,6],褐斑病是由破坏几丁质的细菌(chitin-destroying bacteria)通过伤口感染而引起的。患病的对虾,其感染部位的甲壳出现迅速扩大的褐黑色坏死区,以致不能蜕皮。染病部位也可能因其它病原体两次性感染而引起对虾死亡。池内饲养对虾时感染率最高可达 100%。但 Sindermann 等的观察研究并未提及对生殖系统的影响。作者在上述越冬实验中发现,对虾严重感染褐斑病后,其感染区下方的卵巢即不发育,已经发育的卵巢颜色也由原来的绿色转为熟红色,出现明显的萎缩和坏死迹象。此外,病虾的外骨骼较正常者显著变软,背部严重感染的黑斑经常掉落使肌肉外露,食欲减退,生长也明显受阻。为防止越冬期内褐斑病蔓延,作者在本实验中采用了孔雀石绿¹⁾进行治疗比较。其方法是按 0.3—0.42 ppm 浓度的用药量将上述药物用淡水化开后泼洒池内各处(池内充气),24 小时后,用逐渐换水的方法(每天换新鲜海水 1/5)将浓度冲稀,一直到药液的颜色完全消失为止(以上为一个疗程)。一般治疗 4—5 个疗程后,褐斑病即痊

1) 市售孔雀石绿的品种很多,常见的其分子式有 $[C_{23}H_{22}N_2]_2C_2O_4 \cdot 2H_2C_2O_4 \cdot 2CuO \cdot CO_2 \cdot H_2O$ 和 $2CuO \cdot C_2O_4$ 等,本试验采用的是天津产不含铜的 $[C_{23}H_{22}N_2]_2C_2O_4 \cdot 2H_2C_2O_4$, 请注意区别。

愈。病愈的对虾,原褐斑区的甲壳被一层坚实的乳白色玻璃样分泌物紧紧包埋。并在水温升高后随皮脱落。经上述治愈的对虾卵巢发育转为正常,新甲壳也不再留有任何褐斑痕迹。

4. 越冬期饵料与对虾卵巢发育应该有一定的关系。Alikunhi 等^[10]的报告曾指出卵巢发育的快慢与适宜的饵料一致,如果没有足够的优质营养,对虾卵巢发育的时间就会延长,并且不易充分发育。在上述正交实验中,我们选择了冰冻乌贼和沙蚕,这两种饵料从质量上看都是比较理想的^[2,8,9]。但实验结果却并不十分理想。这种情况在单独采用一种饵料时表现尤为突出。对虾在经过一段时间后,很快就出现嗜食性下降。从实验的交替投喂组看,情况略为好些,但卵巢发育的情况却未见有显著改善。产卵时,每尾亲虾的平均排卵量仅 20 万粒左右,较正常自然越冬亲虾的产卵数约少 1/2—2/3。这一现象是否可以归结为长期使用冰冻饵料的结果还有待进一步证实。

5. 越冬过程中,外环境惊扰对亲虾可能造成不利影响。在正常情况下,越冬亲虾一般都静息池底,除了觅食外极少游动。但是,当外刺激突然出现时(例如猛叩池壁和池内移动大形异物等)虾群便进入惊恐状态,开始急速游动和剧烈窜跳,经常可以发现因碰撞而导致额角折断、背部挫伤。除消耗体力外,还增加了受伤部位病原菌感染的机会,使亲虾的存活率降低。

6. 造成越冬期亲虾死亡的原因是多种多样的。除上面提到的水质、伤残、疾病、营养等因素以外,还有水温偏高导致亲虾蜕皮后的个体互食等等。但蜕不下皮也常常是越冬失败的原因之一。这方面过去很少引起注意。通过观察对比,我们发现这种情况多见于体质孱弱的个体。因此初步认为,在正常的水环境条件下,营养不良和病原体感染是产生这一现象的主要原因。

六、中国对虾越冬和促使卵巢提早发育工艺条件的试配

综上所述,作者提出中国对虾人工越冬工艺的试配方案如下。

水温: 7—11℃, 越冬后期(进入 2 月份后)卵巢需要催熟时每天增温 1℃, 到 18℃ 时恒温;

溶解氧: 6ppm 以上,但不得低于 3ppm;

光照: 200 勒以内或者全暗;

重金属离子浓度: 限制在国家渔业水质标准¹⁾以内超过时加 EDTA 二钠盐(2—10 ppm);

pH: 8.0±0.2;

NH₄⁺-N: 小于 0.1 ppm;

盐度: 30—34‰;

饵料: 优质新鲜双壳类(如蛤仔、蛭蛭)、乌贼和鲜活沙蚕为主,尽量少用或者不用冰冻饵料。为增强对虾的嗜食性,采取几种饵料交替投喂的方法较宜;

外环境惊扰: 尽量避免;

越冬褐斑病治疗: 0.3—0.4 ppm 孔雀石绿连续 4—5 个疗程;

1) 环境保护文件选编(一),第 466—472 页,山东省革命委员会环境保护领导小组编集,1975 年 6 月。

越冬亲虾密度: 8—10 尾/每平方米水体(充气条件下);

♀♂配比: ♀:♂=3:1;

其它: 每天定时排污、适当换水和池内充气。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院数学研究所, 1979. 常用数理统计方法. 科学出版社, 1—262 页。
- [2] 吴尚勤、蔡难几、何进金, 1960. 对虾提早产卵和室内培育幼苗的研究. 海洋科学集刊. M. 01 号: 181—190。
- [3] Hoithuis, L. B., 1980. FAO species catalogue vol. 1—Shrimp and prawns of the world FAO Fish. Synop. 1(125): 41—42.
- [4] AQUACOP, 1975. Maturation and Spawning in Captivity of Penaeid Shrimp Proceedings of Sixth Annual Meeting, World Marine Culture Society. pp. 123—132.
- [5] Clark, W., 1977. Shrimp and Prawn Farming in the Western Hemisphere. pp. 39—40.
- [6] Johnson, S. K., 1975. Handbook of Shrimp Disease. Texas A & M. University, College Station. p. 4.
- [7] Sinderman, C. J., 1977. Disease diagnosis and control in North American. *Marine Aquaculture Development in Aquaculture and Fisheries Science*. 6: 1—329.
- [8] Michael, B. N., 1976. A review of dietary studies with shrimp and prawn. *Aquaculture*. 9: 101—144.
- [9] Shigueno, K., 1975. Shrimp Culture in Japan. Tokyo, Japan. pp. 1—153.
- [10] Alikunki, K. H., A. Poernomo, S. Adisukresno, et al., 1975. Preliminary observation on induction of maturity and spawning in *Penaeus monodon* Fabricius and *Penaeus merguensis* De Man by eye-stalk extirpation. *Bull. Shrimp Cult. Res. Cent.* 1(1):1—11.

A REPORT ON WINTERING AND INDUCING MATURATION OF THE CHINESE SHRIMP, *PENAEUS* *ORIENTALIS* KISHINOUE*

Zhang Weiquan

(Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao)

ABSTRACT

This paper presents the results of experiments on wintering and inducing maturation of the Chinese shrimp, *Penaeus orientalis*, with an appropriate Latin Square densing carried out in 1980. A special section deals with the effects of various major environmental factors and provides information on the best set-up for wintering this species. The main points are given below:

1. Suitable water temperature (7—11°C) plays an important role in wintering the Chinese prawns. It can not only increase the survival rate, but also enhance the development of the ovary. It is necessary for promoting spawning to increase the temperature 1°C daily until 18°C.
2. The lower threshold for survival is about 5°C. Sudden changes in water temperature are harmful.

* Contribution No. 965 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.

3. Moulting occurs when water temperature is raised to or above 14°C. The spermatophore will be lost with the moulting of female shrimp.

4. The male prawns can tolerate environmental changes less than the females do. When water temperature is lowered to 7° C or less, the males will die.

5. Perturbations, such as striking sound, strong light sweeping across the surface of water and the presence of large moving objects in the water might put the prawns in a tumult, frightened and jumping all at once. Darkening or covering with black curtain above the rearing tanks may keep shrimps quite and effectively avoid any accident.

6. Excess algal growth in the water reduces the transparency and makes observation of the behaviour of prawns difficult. Control of it can be achieved by shading (within 100 Lux.)

7. During the wintering period the brown spot disease is commonly found among shrimps infected with several species of chitin-destroying bacteria.

Heavy infestations caused by secondary infections or difficulty in moulting may result in death or retard the development of affected ovary.

External treatment with malachite green ($C_{23}H_{25}N_2)_2 C_2O_4 \cdot 2 H_2C_2O_4$ (at 0.3—0.4 ppm) is effectual.

8. The suggested set-ups for rearing the Chinese shrimp overwinter and for promoting spawning are:

Water temperature	7—11°C (To be raised 1°C daily until 18°C just before desired spawning)
Dissolved oxygen	over 6 ppm
Illumination	below 100 Lux or complete darkness
pH	8 ± 0.2
NH ₄ -N	below 0.1 ppm
Salinity	30—34‰
Stocking density	8—10 prawns/1m ³ water
♀ : ♂	3:1
Feeding	fresh meat of bivalves, squids, nereis, etc. feeding alternately
Brown spot disease	external treatments with malachite green at 0.3—0.4 ppm (at 4 times).