

## CuSO<sub>4</sub> 对中华绒螯蟹蜕皮、生长和存活的影响

杨志彪<sup>1,3</sup> 赵云龙<sup>1</sup> 周忠良<sup>1</sup> 杨健<sup>2</sup>

(1. 华东师范大学生命科学学院, 上海 200062;

2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 无锡 214081;

3. 上海交通大学农业与生物学院, 上海 201101)

**摘要:** 通过向水中添加不同浓度的铜(Cu<sup>2+</sup>), 观察其对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*) iv期幼蟹(0.020±0.01g)和12月龄扣蟹(3.34±0.26g)的毒性影响。Cu<sup>2+</sup>对iv期幼蟹24, 48, 72和96h的半致死浓度(LC<sub>50</sub>)分别为0.70, 0.43, 0.33和0.22 mg/L, 而对12月龄扣蟹相应的LC<sub>50</sub>分别是18.20, 10.23, 9.12和8.51 mg/L。中华绒螯蟹iv期幼蟹在0.00, 0.01, 0.02, 0.03, 0.05和0.08 mg/L Cu<sup>2+</sup>的水环境中的蜕皮率、增重率和存活率的比较研究结果表明, 虽然各浓度组存活率均高于50%, 但其随着Cu<sup>2+</sup>浓度的增高而降低。增重率和蜕皮率的变化趋势与存活率相似。此外, 研究了中华绒螯蟹12月龄扣蟹在0.00, 0.01, 0.05, 0.10, 0.50, 1.00和2.50 mg/L Cu<sup>2+</sup>的水环境中蜕皮率、增重率和存活率的变化。结果显示, 各组存活率均高于50%, 除0.01 mg/L处理组的存活率略高于对照组外, 总的变化趋势是随着Cu<sup>2+</sup>浓度的增高而降低。增重率和蜕皮率随着Cu<sup>2+</sup>浓度的增高, 总的变化趋势亦逐渐降低。相关性分析表明, 中华绒螯蟹iv期幼蟹和12月龄扣蟹的生长、蜕皮和存活与水中添加Cu<sup>2+</sup>的浓度增加有极显著的负相关( $P < 0.01$ )。

**关键词:** 中华绒螯蟹; 铜(Cu<sup>2+</sup>); 蜕皮; 生长; 存活

**中图分类号:** S917 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2006)05-0563-07

Cu<sup>2+</sup>是甲壳动物重要的营养元素, 也是合成血蓝蛋白的必需成分之一, 并对多种生长发育相关的生物酶的组成和功能起着重要作用<sup>[1,2]</sup>。但过量的Cu<sup>2+</sup>会对上述蛋白和生物酶产生毒害, 且这些危害可以反映在生物体、细胞或分子水平上<sup>[3]</sup>。水污染直接导致虾蟹成活率降低和养殖成本提高<sup>[4]</sup>。而且, 受Cu<sup>2+</sup>等重金属污染后的产品出口创汇深受影响。金属离子对一些甲壳动物的毒性试验已有研究报道<sup>[5-8]</sup>, 其中, 黄鹤忠等<sup>[9]</sup>对中华绒螯蟹幼体、藏维玲等<sup>[10]</sup>对斑节对虾的幼体作过硫酸铜的急性毒性试验。但对中华绒螯蟹的研究工作大多停留在估算半致死浓度、安全浓度方面, 尚未涉及重金属Cu<sup>2+</sup>对其正常生理活动(如生成和蜕皮等)的影响。因此, 本文研究了水中添加不同剂量的Cu<sup>2+</sup>对中华绒螯蟹幼蟹和扣蟹的毒性以及对其生长蜕皮的影响, 为探讨Cu<sup>2+</sup>影响中华绒螯蟹的生长蜕皮机理奠定基础。

### 1 材料与方法

**1.1 材料** 实验从2004年3月至7月在上海市青浦区金蟹水产养殖有限公司进行。幼蟹为大眼幼体变态的iv期幼蟹, 并经淡化, 个体平均湿重为0.020±0.01 g。扣蟹12月龄, 个体平均湿重为3.34±0.26g。实验前, 用沉淀一周后的淀山湖水, 在水泥池中将上述蟹暂养一周。

用CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O配成50 g/L硫酸铜母液, 试验时再用淀山湖水稀释成所需各处理组的Cu<sup>2+</sup>溶液。经浓硝酸、浓盐酸湿法消化, plasma 2000型电感耦合等离子发射光谱仪(美国Perlin-Elmer公司)测定, 湖水中Cu<sup>2+</sup>的本底浓度为0.001±0.00012 mg/L。

**1.2 Cu<sup>2+</sup>浓度设定** 先进行预备实验, 根据试验结果确定各试验组的Cu<sup>2+</sup>浓度梯度。幼蟹急性毒

收稿日期: 2004-07-16; 修订日期: 2006-04-02

基金项目: 中国水产科学研究院首席科学家资助金项目(1-105011)

作者简介: 杨志彪(1973—), 男, 内蒙古赤峰人, 助理研究员, 博士研究生, 从事水生经济甲壳动物发育生物学和毒理生态学研究。E-mail: nbuyzb@163.com

通讯作者: 杨健(1964—), 男, 湖南邵阳人, 研究员, 从事水生动物环境化学和毒理生态学研究。E-mail: jiany@ffrc.cn

性试验共设 6 个  $\text{Cu}^{2+}$  浓度处理组: 0.0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 和 5.0  $\text{mg/L}$ ; 扣蟹急性毒性试验浓度共设 6 个  $\text{Cu}^{2+}$  浓度处理组: 0, 5, 10, 20, 30 和 40  $\text{mg/L}$ 。根据幼蟹和扣蟹急性毒性试验的结果, 参考国家渔业水质标准(GB11607-89)对  $\text{Cu}^{2+}$  最大含量的规定, 按最高浓度不超过相应蟹 96h 的  $\text{LC}_{50}$  为依据设定生长实验的浓度。幼蟹蜕皮、生长试验设 6 个  $\text{Cu}^{2+}$  浓度处理组: 0.00, 0.01, 0.02, 0.03, 0.05 和 0.08  $\text{mg/L}$ 。扣蟹蜕皮、生长实验设 7 个  $\text{Cu}^{2+}$  浓度处理组: 0.00, 0.01, 0.05, 0.10, 0.50, 1.00 和 2.50  $\text{mg/L}$ 。

**1.3 急性毒性试验** 将实验用幼蟹置于规格为 40  $\text{cm} \times 25 \text{ cm} \times 10 \text{ cm}$  的聚乙烯水族箱中, 分别加入 5 L 含有不同  $\text{Cu}^{2+}$  浓度的水。每个水族箱放入 20 只幼蟹。水族箱中放入数量相同的洗净的河蚌壳, 供蟹躲藏。每个  $\text{Cu}^{2+}$  处理组均设三个重复平行组。实验期间不投饵, 为保持水质和  $\text{Cu}^{2+}$  浓度的稳定, 每隔 12h 监测一次  $\text{Cu}^{2+}$  浓度, 并在每天 7:00 更换少量相同  $\text{Cu}^{2+}$  浓度的饲养用水, 去除死蟹, 记录蜕皮数。实验期间水温为常温 20.2—25.5  $^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{pH} 7.2 \pm 0.3$ , 溶解氧为  $8.3 \pm 0.4 \text{ mg/L}$ , 自然光照, 连续充气。用细玻璃棒轻触几次而附肢完全不动为死亡标准, 记录各组 24, 28, 72 和 96h 的死亡数。以机率单位法计算  $\text{LC}_{50}$ <sup>[8]</sup>。

将实验用扣蟹置于每只规格为 50  $\text{cm} \times 40 \text{ cm} \times 20 \text{ cm}$  的聚乙烯水族箱中, 分别加入 20 L 含有不同  $\text{Cu}^{2+}$  浓度的水。每个水族箱放入 10 只扣蟹, 其他方法同幼蟹。

**1.4 生长和蜕皮试验** 幼蟹饲养 11d, 每天记录蜕皮数, 实验开始和结束时分别称重, 称重前饥饿一天。每天在 6:00 和 18:00 按体重的 5% 投喂恒兴牌零号蟹用饵料(广东恒兴饲料集团有限公司生产), 水温、 $\text{pH}$ 、溶解氧、动物分组、数量和其他饲养方法

同幼蟹急性毒性试验; 扣蟹饲养 50 天, 每天记录蜕皮数, 实验开始和结束时分别称重。每天在 6:00 和 18:00 按体重的 5% 投饵(同幼蟹), 水温、 $\text{pH}$ 、溶解氧、动物分组、数量和其他饲养方法同扣蟹急性毒性试验。

幼蟹和扣蟹的增重率、蜕皮率和存活率分别由下列公式计算:

增重率 = (试验结束后体重 - 初始体重) ÷ 初始体重 × 100% ;

蜕皮率 = 试验结束后蜕皮总数 ÷ 试验动物数 × 100% ;

存活率 = 试验结束后动物存活数 ÷ 初始试验动物数 × 100% 。

**1.5 数据分析** 所有结果均以 3 个平行组数据的平均值 ± 标准差 (Means ± SD) 表示, 用 SPSS 软件 Duncan 法进行显著方差分析和多重比较, 相关性检验由 SPSS 软件 Pearson 法得出。

2 结果

2.1  $\text{Cu}^{2+}$  对中华绒螯蟹的急性毒性试验

$\text{Cu}^{2+}$  对幼蟹急性毒性作用见表 1, 对照组幼蟹全部存活。 $\text{Cu}^{2+}$  浓度为 5.0  $\text{mg/L}$  的处理组, 动物在 24h 内全部死亡。 $\text{Cu}^{2+}$  对 12 月龄扣蟹的急性毒性作用见表 2, 对照组动物全部存活。 $\text{Cu}^{2+}$  浓度为 40  $\text{mg/L}$  的处理组, 动物在 24h 内全部死亡。经计算得出  $\text{Cu}^{2+}$  对幼蟹的 24, 48, 72 和 96h 的  $\text{LC}_{50}$  分别是 0.70, 0.43, 0.33 和 0.22  $\text{mg/L}$ (图 1(a)); 12 月龄扣蟹的 24, 48, 72 和 96h 的  $\text{LC}_{50}$  分别是 18.20, 10.23, 9.12 和 8.51  $\text{mg/L}$ (图 1(b))。由图 1 可见, 扣蟹所有的  $\text{LC}_{50}$  都高于对应时期幼蟹的, 不论是幼蟹还是扣蟹,  $\text{LC}_{50}$  均随着暴露于  $\text{Cu}^{2+}$  溶液的时间的延长而降低。

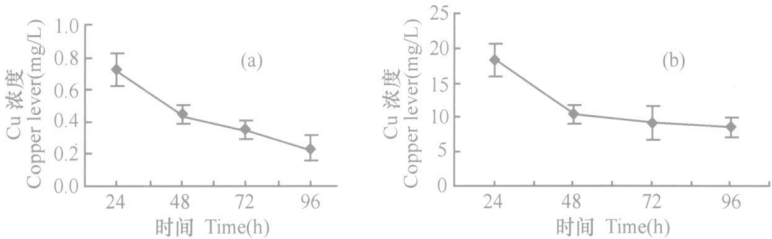


图 1  $\text{Cu}^{2+}$  对中华绒螯蟹 iv 期幼蟹(a) 和 12 月龄扣蟹(b) 的  $\text{LC}_{50}$

Fig 1  $\text{LC}_{50}$  of water copper concentration on the iv stage juvenile(a) and 12-month-old *E. sinensis* (b)

表 1 Cu<sup>2+</sup> 对中华绒螯蟹 iv 期幼蟹的急性毒性( *n*= 3)  
Tab. 1 Acute toxicity of copper on iv stage juveniles *E. sinensis* ( *n*= 3)

水 Cu <sup>2+</sup> 浓度(mg/ L) Water copper level	不同时间各组平均死亡率( % ) ±SD 是 Average number of mortality( % ) ±SD			
	24h	48h	72h	96h
0. 00	0. 00±0. 00	0. 00±0. 00	0. 00±0. 00	0. 00±0. 00
0. 10	20. 00±5. 00	41. 67±2. 89	40. 00±5. 00	43. 33±7. 64
0. 50	41. 67±2. 89	41. 67±2. 89	46. 67±2. 89	55. 00±5. 00
1. 00	51. 67±2. 89	55. 00±5. 00	61. 67±2. 89	63. 33±5. 77
2. 50	75. 00±10. 00	76. 67±12. 58	81. 67±12. 58	96. 67±2. 89
5. 00	100. 00±0. 00	—	—	—

表 2 Cu<sup>2+</sup> 对中华绒螯蟹 12 月龄扣蟹的急性毒性( *n*= 3)  
Tab. 2 Acute toxicity of copper on the survival rate of 12-month-old *E. sinensis*( *n*= 3)

水 Cu <sup>2+</sup> 浓度(mg/ L) Water copper level	不同时间各组平均死亡率( % ) ±SD Average number of mortality rate( % ) ±SD			
	24h	48h	72h	96h
0. 00	0. 00±0. 00	0. 00±0. 00	0. 00±0. 00	0. 00±0. 00
5. 00	0. 00±0. 00	13. 33±5. 77	13. 33±5. 77	13. 33±5. 77
10. 00	10. 00±10. 00	70. 00±10. 00	70. 00±10. 00	76. 67±5. 77
20. 00	66. 67±5. 77	83. 33±5. 77	86. 67±5. 77	90. 00±0. 00
30. 00	80. 00±0. 00	86. 67±5. 77	96. 67±5. 77	96. 67±5. 77
40. 00	96. 67±5. 77	100. 00±0. 00	—	—

2. 2 Cu<sup>2+</sup> 对中华绒螯蟹生长、存活和蜕皮的影响

饲养 11 天后, 不同浓度的 Cu<sup>2+</sup> 处理组对中华绒螯蟹幼蟹的生长、存活和蜕皮的影响结果见表 3。由表 3 可知, 各组存活率均高于 50%, 且随着 Cu<sup>2+</sup> 浓度的增高而降低。对照组存活率最高, 为 92. 50%, 0. 08mg/ L 的 Cu<sup>2+</sup> 浓度组的存活率最低, 为 57. 50%。显著性检验表明, 0. 01 和 0. 02mg/ L 处理组与对照组之间的存活率均没有显著差异。0. 03 mg/ L 及以上 Cu<sup>2+</sup> 浓度处理组与对照组相比均有显著差异。

体重和增重率随着 Cu<sup>2+</sup> 浓度的增高逐渐降低。对照组的增重率最高, 为 228. 43%, 0. 08 mg/ L Cu<sup>2+</sup> 浓度组的增重率最低, 为 68. 50%。0. 08 mg/ L Cu<sup>2+</sup> 浓度组与对照组有显著差异。其余各组之间无显著差异。

蜕皮数与蜕皮率变化趋势相似, 随着 Cu<sup>2+</sup> 浓度的增高逐渐降低。对照组蜕皮率最高, 为 140. 00%。0. 08 mg/ L 的 Cu<sup>2+</sup> 浓度蜕皮率最低, 为 87. 50%。值得注意的是, 0. 01 mg/ L Cu<sup>2+</sup> 浓度组即对幼蟹的蜕皮率产生显著抑制。

表 3 不同浓度的 Cu<sup>2+</sup> 对中华绒螯蟹 iv 期幼蟹蜕皮、生长和存活的影响( *n*= 3)  
Tab. 3 Effect of copper on the molting, growth and survival of iv stage juvenile *Eriocheir sinensis* ( *n*= 3)

水 Cu <sup>2+</sup> 浓度(mg/ L) Water copper level	存活率( % ) ±SD Survival rate±SD	体重( g ) ±SD Body weight±SD	增重率( % ) ±SD Weight gain±SD	蜕皮数( 只 ) ±SD Number of molting crab±SD	蜕皮率( % ) ±SD Molting rate ±SD
0. 00	92. 50±3. 54 <sup>a</sup>	0. 065±0. 008 <sup>a</sup>	223. 61±37. 32 <sup>a</sup>	28. 00±1. 41 <sup>a</sup>	140. 00±7. 07 <sup>a</sup>
0. 01	87. 50±3. 54 <sup>a</sup>	0. 059±0. 012 <sup>a</sup>	196. 16±65. 27 <sup>a</sup>	23. 50±0. 71 <sup>b</sup>	117. 50±3. 54 <sup>b</sup>
0. 02	82. 50±3. 54 <sup>ab</sup>	0. 056±0. 008 <sup>ab</sup>	176. 97±41. 26 <sup>ab</sup>	23. 00±1. 41 <sup>b</sup>	115. 00±7. 07 <sup>b</sup>
0. 03	75. 00±7. 07 <sup>b</sup>	0. 054±0. 007 <sup>ab</sup>	169. 33±33. 70 <sup>ab</sup>	23. 00±0. 00 <sup>b</sup>	115. 00±0. 00 <sup>b</sup>
0. 05	72. 50±3. 54 <sup>b</sup>	0. 049±0. 001 <sup>ab</sup>	141. 87±2. 65 <sup>ab</sup>	21. 50±0. 71 <sup>b</sup>	107. 50±3. 54 <sup>b</sup>
0. 08	57. 50±3. 54 <sup>c</sup>	0. 037±0. 002 <sup>b</sup>	81. 37±12. 21 <sup>b</sup>	17. 50±0. 71 <sup>c</sup>	87. 50±3. 54 <sup>c</sup>

注: 1. 同行数值上标相同, 表明组间差异不显著( *P*> 0. 05), 反之表明差异显著( *P*< 0. 05 或 *P*< 0. 01); 2. 体重数值为实验结束后各组存活个体的体重平均数, 各组初始体重的平均值为 0. 02±0. 01g; 1. Values in a row with the same letter are not significantly different( *P*> 0. 05); 2. The average of initial weight is 0. 02±0. 01g in each treated group.

饲养 50 天后, 不同  $\text{Cu}^{2+}$  浓度处理组对中华绒螯蟹扣蟹的蜕皮、生长和存活的影响结果见表 4。各组存活率为 57.50%—92.50% 之间, 且其总的变化趋势是随着  $\text{Cu}^{2+}$  浓度的增高而降低。除了 0.01 mg/L 处理组存活率较高, 与对照组无显著差异外。大于等于 0.05 mg/L  $\text{Cu}^{2+}$  浓度处理组与对照组相比均有显著性差异。其中 2.50 mg/L 的  $\text{Cu}^{2+}$  浓度组的存活率最低, 为 50.00%。

体重和增重率随着  $\text{Cu}^{2+}$  浓度的增高虽然略有

表 4 不同浓度的  $\text{Cu}^{2+}$  对中华绒螯蟹 12 月龄扣蟹蜕皮、生长和存活的影响(  $n = 3$  )

水 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度(mg/L)	存活率(%) $\pm$ SD	体重(g) $\pm$ SD	增重率(%) $\pm$ SD	蜕皮数(只) $\pm$ SD	蜕皮率(%) $\pm$ SD
Water copper level	Survival rate $\pm$ SD	Body weight $\pm$ SD	Weight gain $\pm$ SD	Number of molting crab $\pm$ SD	Molting rate $\pm$ SD
0.00	90 $\pm$ 0.00 <sup>ab</sup>	9.23 $\pm$ 1.77 <sup>a</sup>	177.00 $\pm$ 55.56 <sup>a</sup>	16.5 $\pm$ 2.12 <sup>a</sup>	165 $\pm$ 21.21 <sup>a</sup>
0.01	100 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	8.49 $\pm$ 1.68 <sup>a</sup>	168.94 $\pm$ 33.51 <sup>a</sup>	16.5 $\pm$ 2.12 <sup>a</sup>	165 $\pm$ 21.21 <sup>a</sup>
0.05	80 $\pm$ 7.07 <sup>a</sup>	8.30 $\pm$ 0.91 <sup>a</sup>	128.50 $\pm$ 7.79 <sup>bc</sup>	12.0 $\pm$ 4.24 <sup>ab</sup>	120 $\pm$ 42.42 <sup>ab</sup>
0.10	75 $\pm$ 3.54 <sup>b</sup>	8.47 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	154.15 $\pm$ 3.69 <sup>ab</sup>	9.0 $\pm$ 4.24 <sup>ab</sup>	90 $\pm$ 42.42 <sup>ab</sup>
0.50	75 $\pm$ 3.54 <sup>b</sup>	7.33 $\pm$ 0.70 <sup>a</sup>	103.23 $\pm$ 12.16 <sup>c</sup>	6.0 $\pm$ 4.24 <sup>b</sup>	60 $\pm$ 42.42 <sup>b</sup>
1.00	55 $\pm$ 3.54 <sup>c</sup>	3.56 $\pm$ 0.30 <sup>b</sup>	13.40 $\pm$ 14.04 <sup>d</sup>	4.5 $\pm$ 2.12 <sup>b</sup>	45 $\pm$ 21.21 <sup>b</sup>
2.50	50 $\pm$ 0.00 <sup>c</sup>	3.59 $\pm$ 0.54 <sup>b</sup>	16.38 $\pm$ 10.98 <sup>d</sup>	4.5 $\pm$ 2.12 <sup>b</sup>	45 $\pm$ 21.21 <sup>b</sup>

注: 各组初始体重的平均值为 3.34g, 其他同表 3 注;The average of original weight is 3.34g in each treated group, and other notes are same as the notes for Tab. 3.

经相关性检验,  $\text{Cu}^{2+}$  浓度与幼蟹存活率、增重率和蜕皮率的相关系数分别为 -0.953(  $t = 23.956$ ,  $n = 60$ ,  $P = 0.000$  ), -0.852(  $t = 12.394$ ,  $n = 60$ ,  $P = 0.000$  ) 和 -0.911(  $t = 23.424$ ,  $n = 60$ ,  $P = 0.000$  );  $\text{Cu}^{2+}$  浓度与扣蟹的存活率、增重率和蜕皮率的相关系数分别为 -0.842(  $t = 8.259$ ,  $n = 30$ ,  $P = 0.000$  ), -0.646(  $t = 4.478$ ,  $n = 30$ ,  $P = 0.000$  ) 和 -0.802(  $t = 7.105$ ,  $n = 30$ ,  $P = 0.000$  ), 均呈显著的负相关(  $P < 0.01$  )

### 3 讨论

#### 3.1 水环境中的 $\text{Cu}^{2+}$ 对中华绒螯蟹的幼蟹和扣蟹的急性毒性

$\text{Cu}^{2+}$  是甲壳动物必需的微量元素, 但是高浓度的  $\text{Cu}^{2+}$  会对机体产生毒性<sup>[3]</sup>。本文研究结果显示, iv 期幼蟹的  $\text{LC}_{50}$  均分别低于对应时期的扣蟹的  $\text{LC}_{50}$ 。这是由于动物个体较大, 对  $\text{Cu}^{2+}$  的耐受性较高的结果。相似的报道见于日本对虾<sup>[5]</sup>。另外, 有报道硫酸铜对中华绒螯蟹大眼幼体的  $\text{LC}_{50}$  分别为 6.44(2.576)、3.74(1.496)、3.33(1.332) 和 1.50(0.6) mg/L<sup>[9]</sup>( 括号中数值为相当于  $\text{Cu}^{2+}$  的浓度)。该研究数值明显高于本实验幼蟹的  $\text{LC}_{50}$ , 可能是由于试验条件和计算方法不同而导致结果的差异, 这也提

波动, 但总的趋势是逐渐降低。对照组的增重率最高, 为 177.00%, 2.50 mg/L  $\text{Cu}^{2+}$  浓度组的增重率最低, 为 16.38%。

蜕皮数与蜕皮率变化趋势相似, 随着  $\text{Cu}^{2+}$  浓度的增高逐渐降低。对照组蜕皮率最高, 为 165.00%。1.00 和 2.50 mg/L 的  $\text{Cu}^{2+}$  浓度蜕皮率最低, 为 45%。大于等于 0.5 mg/L 以上处理组的蜕皮率与对照组有显著差异。

示有规范试验方法的必要,  $\text{LC}_{50}$  的另一个重要作用是为慢性实验提供参考依据。在慢性实验中, 通常用 96h 的  $\text{LC}_{50}$  乘以一系列系数( 如 0.5, 0.1, 0.01, 0.001 等) 来设置慢性试验的浓度<sup>[11]</sup>。本研究中幼蟹慢性实验中最大浓度为幼蟹 96h 的  $\text{LC}_{50}$  的 0.36 倍。扣蟹慢性实验中最大浓度为扣蟹 96h 的  $\text{LC}_{50}$  的 0.29 倍。这样做的目的是使慢性实验中最高浓度组的存活率不低于 50%。

#### 3.2 水环境中的 $\text{Cu}^{2+}$ 对中华绒螯蟹幼蟹和扣蟹的生长、蜕皮和存活的影响

为了研究水环境中添加的  $\text{Cu}^{2+}$  与蟹的生长、蜕皮和存活的关系, 首先进行了相关性检验, 结果说明: 中华绒螯蟹幼蟹和扣蟹的生长、蜕皮和存活与水环境中添加的  $\text{Cu}^{2+}$  有浓度依存的负相关, 随着水环境中添加  $\text{Cu}^{2+}$  浓度的增高, 其生长、蜕皮和存活受到的抑制越来越明显。

幼蟹对  $\text{Cu}^{2+}$  的敏感还表现在水体中添加 0.01 mg/L 的  $\text{Cu}^{2+}$  即对幼蟹的蜕皮率产生显著抑制, 而同样浓度的  $\text{Cu}^{2+}$  对扣蟹却几乎没有影响, 当  $\text{Cu}^{2+}$  浓度增加到 0.5 mg/L 时才对扣蟹的存活率、增重率和蜕皮率产生显著抑制。这与蟹的生理机制密切相关, 一方面甲壳动物的蜕皮是一个脆弱的时期, 包括

新的外表皮的构成以及吸收水分和离子的增长(包括  $\text{Cu}^{2+}$ ) 以增大自身的体积<sup>[12]</sup>。而且在蜕皮时易受毒性的影响<sup>[13, 14]</sup>, 尤其对重金属特别敏感<sup>[14, 15]</sup>。这也解释了在试验中观察到的幼蟹或扣蟹蜕皮未遂而死亡的现象。另一方面, 幼蟹阶段蜕皮频繁, 离子的相对吸收量大, 受到的毒性影响亦大<sup>[16]</sup>, 较低浓度的  $\text{Cu}^{2+}$  就对幼蟹产生显著影响。而在扣蟹组, 由于扣蟹的蜕皮周期相对较长<sup>[17]</sup>, 对照组在 50 天的试验期间蜕皮率仅为 165%, 较高浓度的  $\text{Cu}^{2+}$  才对扣蟹产生显著影响。总之,  $\text{Cu}^{2+}$  对中华绒螯蟹蜕皮和生长的影响是蜕皮和  $\text{Cu}^{2+}$  的胁迫共同作用的结果<sup>[14]</sup>。

$\text{Cu}^{2+}$  不同的吸收途径对中华绒螯蟹产生的影响不同, 水环境中的  $\text{Cu}^{2+}$  在较低浓度时 (0.05 mg/L) 就对中华绒螯蟹的存活、生长和蜕皮产生显著抑制, 且随着  $\text{Cu}^{2+}$  浓度的增加, 产生的抑制作用呈上升趋势。而饵料中的  $\text{Cu}^{2+}$  在 53 mg/kg 时, 最有利于中国对虾的生长<sup>[1]</sup>, 这与  $\text{Cu}^{2+}$  的两种吸收途径有关。饲料中的  $\text{Cu}^{2+}$  经口摄入, 经消化道吸收, 有很大一部分随着粪便排出体外, 另外, 饲料在水中要溶解一部分, 所以真正进入血淋巴的只是其中一小部分。而水环境中的  $\text{Cu}^{2+}$  是同时由鳃和消化道吸收, 主要是由鳃吸收后直接进入血淋巴, 再影响内分泌系统, 通过调节蜕皮激素和蜕皮抑制激素的释放来影响蜕皮和生长。在我们的研究中, 发现水中添加 0.01 mg/L 的  $\text{Cu}^{2+}$  就对中华绒螯蟹(平均湿重  $100.00 \pm 10.11$  g) 血淋巴中的蜕皮激素 (20-羟基蜕皮酮) 产生显著抑制 ( $P < 0.05$ ) (另文发表)。这也是  $\text{Cu}^{2+}$  影响中华绒螯蟹蜕皮、生长和存活的可能机制。

由于  $\text{Cu}^{2+}$  是甲壳动物的重要营养元素, 适量的  $\text{Cu}^{2+}$  有利于其生长。有研究表明, 水环境中添加  $\text{Cu}^{2+}$  浓度为 2  $\mu\text{g/L}$  时日本沼虾摄食量增加且生长发育加快<sup>[18]</sup>。 $\text{Cu}^{2+}$  对中华绒螯蟹的最适水体浓度是否同此, 尚有待进一步研究。

生产中大量使用硫酸铜等有关化合物进行病害防治和清塘灭藻已成为重要的水污染原因之一。本研究发现, 水环境中添加 0.01 mg/L 的  $\text{Cu}^{2+}$  即对幼蟹的蜕皮率产生显著抑制。而经常用来减少池塘中藻类的硫酸铜浓度却达到了 0.084 mg/L (相当于 0.033 mg/L 的  $\text{Cu}^{2+}$ )<sup>[19]</sup>, 这显然超过了蟹的忍受范围, 必定会影响蟹的质量和产量。本研究提示在生产实践中养蟹水体  $\text{Cu}^{2+}$  的最大浓度应低于 0.01 mg/L。

## 参考文献:

- [1] Liu F Y, Liang D H, Sun F, *et al.* Effects of dietary copper on the prawn *Penaeus orientalis* [J]. *Oceanol & Limnologia sin*, 1990, **21**(5): 404—410 [刘发义, 梁德海, 孙凤, 等. 饲料中的铜对中国对虾的影响. 海洋与湖沼, 1990, **21**(5): 404—410]
- [2] M ndez L, Racotta I S, Acosta B, *et al.* Mineral level in tissue during ovarian development of white shrimp *Penaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae) [J]. *Marine Biology*, 2001, **138**: 687—692
- [3] Brouwer M, Syring R, Brouwer T H. Role of a copper-specific metallothionein of the blue crab, *Callinectes sapidus*, in copper metabolism associated with degradation and synthesis of hemocyanin [J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2002, **88**: 228—239
- [4] Wong C K, Cheung J K Y, Chr K H. Effects of copper on survival, development and growth of *Metapenaeus ensis* larvae and postlarvae Decapoda: Penaeidae [J]. *Mar. Pollut. Bull.*, 1995, **31**: 4—12
- [5] Bamhang Y, Thuet P, Chamantier-Daures M, *et al.* Effect of copper on survival and osmoregulation of various developmental stages of the shrimp *Penaeus japonicus* Bate (Crustacea, Decapoda) [J]. *Aquatic Toxicology*, 1995, **33**: 125—139
- [6] Pan L Q, Luan Z H. The effects of salinity on development and  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase activity of *Marsupenaeus japonicus* postlarvae [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, **29**(6): 699—703 [潘鲁青, 梁治华. 盐度对日本囊对虾仔虾生长发育和  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase 活力的影响. 水生生物学报, 2005, **29**(6): 699—703]
- [7] Wang L, Sun H F. Effect of cadmium on ultrastructure of myocardial cell of freshwater crab, *Sinopotamon yangtsekiense* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2002, **26**(1): 8—13 [王兰, 孙海峰. 镉对长江华溪蟹心肌细胞超微结构的影响 [J]. 水生生物学报, 2002, **26**(1): 8—13]
- [8] Liu B, Wang W, Deng N S. The current research status of mechanism between aquatic organisms and metal ions [J]. 2002, **26**(6): 697—703 [刘彬, 王维, 邓南圣. 水生生物与金属离子相互作用机理研究现状. 水生生物学报, 2002, **26**(6): 697—703]
- [9] Huang H Z, Liang S R, Wu K, *et al.* Toxic effect of three drugs on Chinese crab *Eriocheir sinensis* larval [J]. *Reservoir Fisheries*, 1998, **6**: 15—28 [黄鹤忠, 梁守仁, 吴康, 等. 3种药物对河蟹幼体的毒性试验. 水利渔业, 1998, **6**: 15—28]
- [10] Zang W L, Dai X L, Jiang M, *et al.* Toxic Effects of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  on Giant Tiger Prawn *Penaeus monodon* Juvenile [J]. *Fisheries Science & Technological Information*, 2001, **28**(5): 198—201 [臧维玲, 戴习林, 江敏, 等.  $\text{Cu}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+}$  对斑节对虾幼虾的毒性作用. 水产科技情报, 2001, **28**(5): 198—201]
- [11] Zhou Y X, Zhang Z S. Methods of toxicity test of hydrobiology [M]. Beijing: Agriculture Press, 1989, 114—131 [周永欣, 章宗涉, 水生生物毒性试验方法. 北京, 农业出版社, 1989, 114—131]
- [12] Lockwood A P M, Inman C B E. Changes in the apparent permeability to water at molting in the amphipod *Gammarus duebeni* and the isopod *Idotea linearis* [J]. *Comp. Biochem. Physiol.*, **44A**, 1973, 943—952
- [13] Wright D A. The effect of calcium on cadmium uptake by the shore crab *Carcinus maenas* [J]. *J. Exp. Biol.*, 1977, **10**: 571—579
- [14] Daly H R, Hart B T and Campbell I C. Short communication Copper

toxicity to *Paratya australiensis*, ⑤. Relation with ecdysis [J]. *Environ. Toxicol. Chem.* 1992, **11**: 881—889

[15] Rainbow P S. Heavy metal levels in marine invertebrates. In: Furness R W and Rainbow P S (Editors), *Heavy Metals in the Marine Environment*. CRC Press, Boca Raton FL, 1990, 67—69

[16] Pijan B T, Law A T, Cheah S H. Toxic levels of mercury for sequential larval stages of *Macrobrachium rosenbergii*( De Man) [J]. *Aquaculture (Nether lands)*. 1985, **46**( 4): 353—359

[17] Du N S. *Crustacean Biology*[M]. Beijing: Science Press 1993, 736 堵南山. 甲壳动物学. 北京, 科学出版社, 1993. 736]

[18] Wang W N, Wang A L, Sun R Y. Effects of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  and  $\text{Co}^{2+}$  in fresh water on digestive enzyme and Alkaline phosphatase activity of *Macrobrachium nipponense*[ J]. *Acta Zool Sin*, 2001, **47**( Special Issue): 72—77( 王维娜, 王安利, 孙儒泳 水环境中的铜 锌 铁钴离子对日本沼虾消化酶和碱性磷酸酶的影响. 动物学报, 2001, **47**( 专刊): 72—77)

[19] Boyd C E. *Water Quality in Ponds for Aquaculture*[ M], Birmingham Publishing, Birmingham, Alabama, 1990, 482

## EFFECTS OF WATER $\text{CuSO}_4$ CONCENTRATION ON MOLTING, GROWTH AND SURVIVAL OF *ERIOCHEIR SINENSIS*

YANG Zhi-Biao<sup>1,3</sup>, ZHAO Yun-Long<sup>1</sup>, ZHOU Zhong-Liang<sup>1</sup> and YANG Jian<sup>2</sup>

(1. School of life science, East China Normal University, Shanghai 200062;

2. Freshwater Fisheries Research Center of Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081;

3. School of agriculture and biology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 201101)

**Abstract:** The effects of water-borne  $\text{Cu}^{2+}$  on the molting rate, the weight gain and the survival rate of iv stage juvenile ( $0.020 \pm 0.01$  g) and 12-month-old ( $3.34 \pm 0.26$  g) *Eriocheir sinensis* were studied. The 24-, 48-, 72- and 96-h  $\text{LC}_{50}$ s of  $\text{Cu}^{2+}$  on juvenile *E. sinensis* were 0.70, 0.43, 0.33 and 0.22 mg/L, respectively. Those on the 12-month-old *E. sinensis* were 18.20, 10.23, 9.12 and 8.51 mg/L, respectively. All the  $\text{LC}_{50}$ s obtained in 12-month-old *E. sinensis* were higher than those in the juvenile animals. The  $\text{LC}_{50}$ s decreased in accordance with the increase of copper exposure time in both stages of *E. sinensis*. Effects of different levels of water-borne  $\text{Cu}^{2+}$  (0.00, 0.01, 0.02, 0.03, 0.05, 0.80 mg/L) on the molting rate, weight gain and survival rate of iv stage juvenile were determined. The results showed that after 11 days of Cu exposure, the survival rate for the juveniles were all above 50%, and it decreased in accordance with the increase of  $\text{Cu}^{2+}$  level. The highest survival rate (92.50%) was found in the control group, while the lowest (57.50%) was found in the 0.08 mg/L  $\text{Cu}^{2+}$  treated group. There was no significant difference in the survival rate between the control group and 0.01, 0.02 mg/L  $\text{Cu}^{2+}$  treated groups. In contrast, those treated with 0.03 mg/L  $\text{Cu}^{2+}$  or higher concentration were significantly different with the controls. The weight gain decreased in accordance with the increase of water-borne  $\text{Cu}^{2+}$  level. The highest weight gain (228.43%) found in the control group, while the lowest gain (68.50%) was detected in 0.08 mg/L  $\text{Cu}^{2+}$  treated group. There was a significant difference between the 0.08 mg/L copper treated group and the control group ( $P < 0.05$ ). However, there was no difference among all other treated groups. There was the highest molting rate (140.00%) in control group and the lowest (87.50%) in 0.08 mg/L  $\text{Cu}^{2+}$  treated group. It should be noted that even in the 0.01 mg/L treated group copper had a significant inhibition ( $P < 0.05$ ) on molting rate of *E. sinensis*. In 12-month-old *E. sinensis* when treated with water-borne  $\text{Cu}^{2+}$  level of 0.00, 0.01, 0.05, 0.10, 0.50, 1.00 and 2.50 mg/L for 50 days, respectively, the survival rates of these animals fluctuated between 57.50% and 92.50% and generally decreased in accordance with the increase of water-borne  $\text{Cu}^{2+}$  levels. Except in 0.01 mg/L  $\text{Cu}^{2+}$  treated group, there was a significant difference of the survival rate in all  $\text{Cu}^{2+}$  treated group with the controls ( $P < 0.05$ ). The lowest survival rate (50.00%) presented in 2.50 mg/L copper treated group. The weight gain fluctuated with the increase of  $\text{Cu}^{2+}$  levels; however, it generally decreased in accordance with the increase of water-borne copper concentrations. The highest weight gain (177.00%) was in control group, while the lowest weight gain (16.38%) was in 2.5 mg/L  $\text{Cu}^{2+}$  treated group. Similar variation tendencies were observed on molting rate. It decreased in accordance with the increase of copper level, with the highest molting rate (165.00%) in control group and the lowest value (45%) in 1.00 mg/L and 2.50 mg/L copper treated group. There was a significant difference ( $P < 0.05$ ) between the control group and the 0.5 mg/L  $\text{Cu}^{2+}$  or higher treated groups. The correlation coefficients between water-borne copper concentration and the survival weight gain, and molting rate in juvenile *E. sinensis* was -0.953, -0.852 and -0.911, respectively; and those in 12-month-old *E. sinensis* was -0.842, -0.646 and -0.802, respectively, suggesting a significantly negative correlation (Pearson correlation test  $P < 0.01$ ) between the water-born copper concentration and these rates of *E. sinensis*.

**Key words:** *Eriocheir sinensis*; Copper; Molting; Growth; Survival