

中国林蛙蝌蚪对碳酸盐碱度的适应性*

杨富亿

(中国科学院东北地理与农业生态研究所 长春 130012)

摘要: 为了解中国林蛙蝌蚪对碳酸盐碱度的适应性,在水温 16~18℃、pH 7.0~8.5 的野外条件下,采用单因子静态急性毒性实验方法,进行了碳酸盐碱度对中国林蛙蝌蚪的急性毒性实验。结果表明:碳酸盐碱度对中国林蛙蝌蚪的 24、48、72、96 h 半致死量(LD₅₀)分别为 14.13、11.92、9.98、7.07 mmol/L,零致死量(LD₀)分别为 9.75、8.64、6.11、3.79 mmol/L,全致死量(LD₁₀₀)分别为 20.16、16.44、16.31、13.22 mmol/L,安全量(SD)为 2.54 mmol/L。野外蝌蚪饲养池水体碳酸盐碱度的适宜范围在 1.0~3.0 mmol/L。

关键词: 中国林蛙; 蝌蚪; 碳酸盐碱度; 适应性

中图分类号: S966.35, S912, Q494 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2004)01-36-04

Adaptability of Tadpole *Rana chensinensis* to Carbonate-alkalinity

YANG Fu-Yi

(Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology, CAS, Changchun 130012, China)

Abstract: In the field where the water temperature ranges between 16 – 18℃ and water pH ranges between 7.0 – 8.5, single-factor acute toxicity experiment was conducted to study the adaptability of tadpole *R. chensinensis* to carbonate-alkalinity. The results showed that the LD₅₀ of the carbonate-alkalinity at 24, 48, 72 and 96 hours to tadpole *R. chensinensis* is 14.13, 11.92, 9.98 and 7.07 mmol/L, the LD₀ is 9.75, 8.64, 6.11 and 3.79 mmol/L, and the LD₁₀₀ is 20.16, 16.44, 16.31 and 13.22 mmol/L, respectively. The SD is 2.54 mmol/L. The water carbonate-alkalinity for tadpole breeding tank is below 3.0 mmol/L.

Key words: *Rana chensinensis*; Tadpole; Carbonate-alkalinity; Adaptability

中国林蛙(*Rana chensinensis*)是我国重要的野生经济蛙类,分布在以长白山地区为主的北方部分省(区)。由于自然资源量日益减少,目前各地均已开展人工养殖,取得一定的经济效益,同时也保护了该物种资源。

中国林蛙养殖效益如何,直接决定于个体生长发育和种群数量。而个体生长和种群数量又常常受到生态与环境因子的影响,例如干旱年中国林蛙体长增长明显小于正常年份,使个体体型减小,性成熟比例下降,种群补充能力降低,导致整个种群衰退^[1];而变态幼蛙对环境的适应性则主要取决于环境的水分,适宜的水分

条件是水深应低于蛙体长或保持栖息地泥土的湿润^[2]。蝌蚪饲养是中国林蛙人工养殖的关键技术之一,蝌蚪成活率直接影响变态幼蛙和成蛙的种群数量^[3]。实践表明,蝌蚪成活率不仅受水环境的盐度、pH 的影响^[4],而且碱度也是影响蝌蚪成活率的主要水环境因子。目前,有关碱度对水生生物的影响研究,多见于鱼、虾类

* 中国科学院创新工程重大项目“绿色食品生产配套技术与产业化开发研究”(No. KZCX1-Y-CA-07);

第一作者介绍 杨富亿,男,39岁,副研究员;从事区域农业(渔业)研究。

收稿日期:2003-04-10,修回日期:2003-11-20

动物^[5,6], 尚未见对蛙类的研究报道。本实验采用野外急性毒性实验法, 探讨中国林蛙蝌蚪对碳酸盐碱度的适应能力, 为促进林蛙养殖业的发展和丰富林蛙生物学理论提供资料。

1 材料与方法

1.1 材料 本实验在吉林省柳河县大泉眼中国林蛙养殖基地进行。所用蝌蚪为 37 日龄, 自繁自育, 体长 (14.7 ± 2.2) mm, 体重 (347.4 ± 82.7) mg, 体质健壮, 无伤病, 实验前用蝌蚪池水暂养 1 d。实验容器为 6 L 的圆形塑料盆。以蝌蚪饲养池水为实验用水(源于山泉), pH 7.0 ~ 8.5, 含盐量 0.18 g/L, 总碱度 1.41 mmol/L。每只盆盛水 5 L, 随机投放蝌蚪 15 尾。

1.2 实验设计 采用单因子静态急性毒性实验法。将碳酸盐碱度作为单因子进行实验设计, 以考察蝌蚪在碱度不同水平值上中毒反应的变化规律, 从而找出致死量和安全量, 而将其它因子如盐度、pH 均控制在蝌蚪池水平(即正常生长范围)。由于野外饲养蝌蚪均采用微流水, 故本实验在借鉴常规静态实验(即实验期间不换水)的基础上, 改用间歇换水的方法, 即每隔 6 h 更换 50% 水量, 以模拟养殖水环境。实验暴露时间为 96 h。根据野外养殖水体碱度较低的特点, 在 2.0 ~ 20.0 mmol/L 之间设置 10 个浓度梯度和 1 个对照组(蝌蚪池水)。每组设 3 次重复, 结果取其平均值。

1.3 pH、碱度的调控 由于野外蝌蚪池水体 pH 均在 7.0 ~ 8.5, 故实验期间也力求将实验水体的 pH 保持在此范围内。碱度采用市售 Na_2CO_3 和 NaHCO_3 控制, pH 用 0.1 mol/L 的 HCl 和 NaOH 调节。实验期间, 水体 pH 受空气 CO_2 分压和蝌蚪呼吸的影响而略有变化, 在校正 pH 的同时也引起碱度的变化, 同时在加入 Na_2CO_3 和 NaHCO_3 时, pH 也随之改变。为确保 pH 和碱度梯度均在所设定的范围内, 实验中当 pH 达到 8.5 以上时, 加入 HCl 和 NaHCO_3 调节; 当 pH 降至 7.0 以下时, 加入 Na_2CO_3 和 NaOH 调节, 加入数量的计算方法按“天然水体 pH 基本

调整方程”进行^[7]。鉴于上述, 本实验碱度梯度采用实测值。

1.4 水质分析与数据处理 采用 PHB-4 型酸度计监测实验水 pH; 盐度、溶解氧、碱度测定均采用常规方法^[8]。采用“机率单位回归法”^[9,10] 计算半致死量 (LD_{50})、10% 致死量 (LD_{10})、90% 致死量 (LD_{90}); 通过“算术比例法”^[11] 计算全致死量 (LD_{100}) 和零致死量 (LD_0)。安全量 (SD) 采用下述公式计算: $\text{SD} = 48 \text{ h } \text{LD}_{50} \times 0.3 / (24 \text{ h } \text{LD}_{50} / 48 \text{ h } \text{LD}_{50})^2$ ^[8]。若对照组出现死亡蝌蚪, 则用 Abott 公式校正^[9]。

实验在山间蛙池边进行。实验期间水温 16 ~ 18℃, 气温 17 ~ 22℃, 溶解氧含量 5 ~ 8 mg/L。每隔 24 h 统计一次死亡数。蝌蚪死亡的判别标准是: 失去游泳能力, 身体侧翻并沉入水底, 对外来刺激(如针刺)毫无反应。

2 结果

中国林蛙蝌蚪在不同碳酸盐碱度下的死亡情况见表 1。实验中发现, 碱度为 20.21 mmol/L 组, 蝌蚪放入 1 h 12 min 全部死亡; 16.24 和 18.74 mmol/L 组, 蝌蚪放入 1 h 17 min 开始出现死亡个体, 至 41 h 57 min 全部死光。即将死亡的蝌蚪体色灰白, 身体先翻转失去平衡后, 不久便死亡; 4.17 ~ 8.44 mmol/L 的低碱度组蝌蚪失去平衡较长时间才死亡, 有的个体失去平衡 60 h 以上仍未死亡。将失去平衡 48 ~ 72 h 的蝌蚪放入正常养殖水体, 有 80% ~ 90% 的个体在 30 min ~ 1.5 h 内逐渐恢复正常活动, 体色也渐渐恢复。碳酸盐碱度对中国林蛙蝌蚪的致死量和安全量见表 2。

3 讨论

碱度同 pH、盐度一样, 是水环境中重要的水化学因子, 也是养殖水体的主要水质指标。我国及国外渔业用水标准都没有规定碱度指标。但实验研究和生产调查资料表明, 碱度对于饲养水生动物的水体生产性能, 存在着显著影响。并且在一定范围内, 水体生产力随着碱

表 1 不同碳酸盐碱度下中国林蛙蝌蚪的死亡情况

碱度 (mmol/L)	24 h		48 h		72 h		96 h	
	死亡数(尾)	死亡率(%)	死亡数(尾)	死亡率(%)	死亡数(尾)	死亡率(%)	死亡数(尾)	死亡率(%)
2.12	0	0	0	0	0	0	0	0
4.17	0	0	0	0	0	0	2	13.3
6.92	0	0	0	0	2	13.2	6	40.0
8.44	0	0	0	0	5	33.3	9	60.0
10.72	2	13.3	5	33.3	8	53.3	13	86.7
12.49	5	33.3	9	60.0	12	80.0	15	100
14.73	8	53.3	12	80.0	13	86.7	15	100
16.24	12	80.0	15	100				
18.74	13	86.7	15	100				
20.21	15	100						
对照组	0	0	0	0	0	0	0	0

表 2 中国林蛙蝌蚪对碳酸盐碱度的适应能力

时间(h)	线性回归方程 ($Y = bX + a$)	显著性			致死量 (mmol/L)					SD (mmol/L)
		r	$r_{0.05}$	$r_{0.01}$	LD ₀	LD ₁₀	LD ₅₀	LD ₉₀	LD ₁₀₀	
24	$Y = 31.703 6X - 31.353 1$	0.989**	0.811	0.917	9.75	10.48	14.13	18.74	20.16	
48	$Y = 35.778 8X - 33.508 1$	0.996**	0.950	0.990	8.64	9.22	11.92	15.42	16.44	2.54
72	$Y = 23.458 2X - 18.442 9$	0.994**	0.878	0.959	6.11	6.74	9.98	14.79	16.31	
96	$Y = 18.427 6X - 10.658 5$	0.985**	0.811	0.917	3.79	4.29	7.07	11.66	13.22	

**表示相关极显著 ($r > r_{0.01}$)

度同步提高。因此,保持水体适当的碱度值对蝌蚪饲养是有利的。但同时也发现,当碱度足够高时,水体中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 形成碳酸盐沉淀,硬度下降,水质类型转化为碳酸盐钠组 I 型水,这种水体对蝌蚪具有毒性。通过本实验观察,高碱度下中国林蛙蝌蚪的急性中毒症状表现为:快速游动冲撞,上下乱窜,侧翻后沉卧水底,同时体表分泌大量粘液,鳃部出血,若干尾扭曲在一起后,不久便死亡;慢性中毒症状表现为:烂尾并有软骨露出,瞎眼或眼球突出,身体弯曲,肌肉溃瘍。这与鱼类患“碱病”(即肌体原纤维腐蚀和坏死)的症状相似^[6]。雷衍之等^[5]根据碳酸盐碱度对鲢鱼 (*Hypophthal michths*)、草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 和鳊鱼 (*Aristichthys nobilis*) 的毒性研究结果,认为 10 mmol/L 可作为一种养鱼用水碱度危险指标,生产上常以此值作为判别鱼类“碱病”的依据。本实验中,蝌蚪的 24 h LD₀ 值和 24 h LD₁₀ 值都十分接近 10 mmol/L。因此,此碱度指标对中国林蛙蝌蚪的养殖,也同样有着指导意义。

研究结果表明,不同种类的水生动物对碱度的耐受性具有较大差异。表 3 列出一些常见的水生动物对碳酸盐碱度的半致死量。可以看出,中国林蛙蝌蚪对碱度的适应能力明显低于这些经济鱼类。如本实验中国林蛙蝌蚪的 24 h LD₅₀ 值仅为耐碱能力最差的鲢鱼的 10% ~ 15% (实验 pH 8.30 ~ 8.74, 接近本实验条件),SD 值仅及鲢鱼的 7% ~ 10%。由于目前缺少有关碱度对蛙类影响的研究资料,尚无法进行同类比较。

高碱度对水生动物的毒性作用与水体的 pH 有关,这种毒性作用是一种综合效应^[5]。本实验在 pH 为 7.0 ~ 8.5 的条件下,碱度越高,对蝌蚪毒性作用越大,死亡时间越短。这同碱度对养殖鱼类的毒性作用规律是一致的。但由于碱度与 pH 具有较强的协同作用,当碱度一定时,水体 pH 越高,对蝌蚪的毒性作用也越大。本实验水体的 pH 若达到表 3 所列各实验水平,蝌蚪对碱度的耐受能力将更低。如在本实验的 pH 水平下,中国林蛙蝌蚪的 24h LD₁₀₀ 值只相当

表 3 某些水生动物对碳酸盐碱度的半致死量和安全量

种类	LD ₅₀ (mmol/L)				SD (mmol/L)	实验条件 pH	资料来源
	24 h	48 h	72 h	96 h			
麦穗鱼 <i>Pseudorasbora parva</i>	78.8	74.5		72.2	20.39		
瓦氏雅罗鱼 <i>Leisciscu waleckii</i>	78.8	73.9		69.2	19.50		
青海湖裸鲤 <i>Gymnocypris przewalskii</i>		99.9		99.9		9.58 ~ 9.70	[6]
鲫 <i>Carassius auratus</i>	73.9	73.9		72.2	22.17		
草鱼 <i>C. idellus</i>	82.2	77.6			20.75	8.65	
	65.7	53.0		34.0	10.35	9.14	
鳊 <i>A. nobilis</i>	65.7	53.0		34.0	10.35	9.14	
鲢 <i>H. molitrix</i>	109.0	109.0	105.0	105.0	32.7	8.30	
	95.0	91.7	90.0	76.7	25.63	8.74	
	72.9	70.9	59.3	51.6	20.12	9.03	[5]
	59.4	50.1		35.6	10.69	9.18	
	59.5	59.5	52.3	52.3	17.85	9.25	
	44.3	42.5	40.0	38.9	11.73	9.40	
	20.9	26.5	24.1	21.1	12.78	9.57	
	8.80					10.0	

表中 SD 值为本文作者计算结果

于 pH 在 9.57 水平下鲢鱼的 24 h LD₅₀ 值; 而 pH 在 9.57 水平下, 蝌蚪的 SD 值为 0.83 mmpl/L (实测 pH 为 9.52), 仅为相同 pH 下鲢鱼 SD 值的 6.5%, 并比本实验所报道结果下降了 67% (另文报道)。蝌蚪这种低耐碱性, 可能与其长期生活在山间溪流环境有关。因为这些水体大部分属缺盐水体(0.2 g/L 以下)^[8], 碱度也均较低(1.0 mmol/L 以下)。

尽管目前对养殖水体的碱度指标尚无明确规定, 但碱度偏低, 水体生产性能不高, 水生生物生长缓慢的规律已被普遍认可。根据本实验结果, 结合生产实际情况, 建议野外蝌蚪饲养池水体的碱度范围也采用淡水渔业水质标准, 即 1.0 ~ 3.0 mmol/L。

参 考 文 献

[1] 李世仪, 李海峰, 杨红莹等. 干旱对中国林蛙体长生长

的影响. 动物学杂志, 2002, 37(6): 66 ~ 69.

[2] 王寿兵, 屈云芳, 经佐琴等. 中国林蛙幼体适宜生存环境的探讨. 动物学杂志, 1997, 32(1): 38 ~ 41.

[3] 杨富亿, 邢庆春, 李景林等. 长白山山区林蛙养殖关键技术. 水利渔业, 1999, 19(5): 7 ~ 9.

[4] 杨富亿, 孙桂芹, 王辉. 食盐和酸碱度对中国林蛙蝌蚪的影响. 吉林林业科技, 2003, 32(2): 4 ~ 6, 13.

[5] 雷衍之, 董双林, 沈成钢等. 碳酸盐碱度对鱼类毒性作用的研究. 水产学报, 1985, 9(2): 171 ~ 183.

[6] 史为良. 我国某些鱼类对达里湖碳酸盐型半咸水的适应能力. 水生生物学集刊, 1981, 7(3): 359 ~ 369.

[7] 陈佳荣. 水化学. 北京: 中国农业出版社, 1996, 66 ~ 71.

[8] 雷衍之. 淡水养殖水化学. 南宁: 广西科学技术出版社, 1993, 6 ~ 11, 111 ~ 116.

[9] 乌祥光. 昆虫生态学常用数学分析方法(修订版). 北京: 农业出版社, 1985, 17 ~ 89.

[10] 刘建康, 何碧梧. 中国淡水鱼类养殖学(第三版). 北京: 科学出版社, 1992, 741 ~ 748.

[11] 娄忠玉, 钱续. 福尔马林对银鲑鱼苗半致死浓度试验. 水利渔业, 2003, 23(1): 58.