

Cu²⁺在凡纳滨对虾组织中的积累及其对蜕皮率、死亡率的影响

程 波^{1,2}, 刘 鹰¹, 杨红生¹

(1. 中国科学院海洋研究所, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘 要: 本文以 CuSO₄·5H₂O 作为 Cu²⁺来源, 研究了水体中分别添加 1、4、7、10 和 15 mg·L⁻¹ 的 Cu²⁺对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)急性毒性的影响。结果表明, 凡纳滨对虾肌肉中 Cu²⁺的积累量在 48 h 时候达到最大值, 为 31.36 μg·g⁻¹ (干重); 甲壳中 Cu²⁺的积累量随着时间的推移而增加: 初始时刻为 16.01 μg·g⁻¹ (干重), 96 h 时达到最大值 69.43 μg·g⁻¹ (干重); 肝胰腺中 Cu²⁺的积累量在各浓度处理下均表现出时间效应关系。在此基础上, 分别以 CuSO₄·5H₂O 和 CuCl₂·2H₂O 作为 Cu²⁺来源, 研究了在水体中分别添加 5、10、15、20 和 30 mg·L⁻¹ 浓度的 Cu²⁺对凡纳滨对虾蜕皮率以及死亡率的影响。结果表明, 两种 Cu²⁺来源短期内都能明显刺激凡纳滨对虾的蜕皮, 以 CuSO₄·5H₂O 作为 Cu²⁺来源时, 对虾的死亡率呈现出局部的剂量效应关系, 而以 CuCl₂·2H₂O 为 Cu²⁺来源时, 表现出一种“饱和”效应。

关键词: 铜离子; 凡纳滨对虾; 积累; 蜕皮; 死亡率

中图分类号: X503.225 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2008)05-2091-05

Copper Accumulation in Tissues and Its Effects on the Rate of Molting and Mortality in *Litopenaeus vannamei*

CHENG Bo^{1,2}, LIU Ying¹, YANG Hong-sheng¹

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: With the development of society and industry, the environmental pollution has been becoming a big problem, especially the heavy metal pollution. The purpose of the present study is to evaluate the accumulation of copper and its effects on the rate of molting and mortality in *Litopenaeus vannamei*. Firstly, the acute toxicity of Cu²⁺ in different concentrations (1, 4, 7, 10 and 15 mg·L⁻¹) on *L. vannamei* was studied. The result showed that the maximum accumulation of Cu²⁺ in the muscle was found after 48 h, as high as 31.36 μg·g⁻¹ (dry weight); also, the accumulation of Cu²⁺ in the carapace was increased, from the beginning of 16.01 μg·g⁻¹ (dry weight) to 69.43 μg·g⁻¹ (dry weight) at the end of 96 h; and in the hepatopancrea, it showed a time-effect relationship in all treatment concentrations. In addition, we investigated the effect of different concentrations (5, 10, 15, 20 and 30 mg·L⁻¹) of Cu²⁺ from different sources [Copper(II) sulfate pentahydrate and Copper(II) chloride dihydrate] on *L. vannamei*. The result showed that both of the sources could increase the rate of molting, and with the treatment of Copper(II) sulfate pentahydrate, there occurred a concentration-effect phenomenon, and when using Copper(II) chloride dihydrate, the mortality showed a saturation phenomenon.

Keywords: copper; *Litopenaeus vannamei*; accumulation; molting; mortality

当前, 虾病和环境保护是虾类养殖生产中共同关心的问题^[1,2]。自 20 世纪 70 年代以来, 由于沿海地区

工农业的迅速发展和集约化池塘养虾生产模式的盲目推行, 导致海水富营养化程度日渐加剧, 海水以及海底沉积物中重金属的污染越来越严重^[1,2], 特别是在对虾池塘养殖生产管理中, 通常采用高浓度的 CuSO₄ 溶液来灭藻杀菌, 造成重金属的污染, 尤其是铜的污染更加严重。2003 年度《中国渔业生态环境状况公报》指出: 以 Cu²⁺ 浓度不超过 0.01 mg·L⁻¹ 为标准, 局部水域污染超标程度仍在增加, 如杭州湾、舟山近海

收稿日期: 2007-12-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(30671620); 国家科技支撑计划项目(2006AA100304); 江苏省科技成果转化专项资金项目(BA2005039); 国家 863 计划项目(2006AA100305)

作者简介: 程 波(1981—), 男, 湖北潜江人, 博士研究生, 主要从事对虾环境行为生态工程学研究。E-mail: chengbocas@gmail.com

通讯作者: 刘 鹰 E-mail: yinliu@ms.qdio.ac.cn

和长江口均高达 0.07 mg·L⁻¹。2006 年度《中国渔业生态环境状况公报》指出,对 25 个重要水域沉积物的监测表明,Cu²⁺的超标比例为 43.7%。低浓度的 Cu²⁺对于对虾具有重要的作用,可以作为他们的营养元素、血蓝蛋白成分,且在许多生物酶的组成和功能上也发挥着重要的作用。但是过量的铜对于对虾来说却是有害的,甚至是致死的。学者 Yeh 研究表明,高浓度的 Cu²⁺会影响对虾的血细胞数量、酚氧化酶活性等免疫指标,致使对虾更易受弧菌的感染^[3]。Bambang 还发现 Cu²⁺胁迫条件下会影响对虾渗透压的调节和生存^[4]。吴众望研究表明,Cu²⁺长时间内会抑制鳃丝中 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性,并能刺激对虾肝胰腺中产生大量的 MT^[5,6]。Chen 研究表明,Cu²⁺能缩短斑节对虾(*Penaeus monodon*)第一次蜕皮时间^[7]。对于凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)而言,Cu²⁺胁迫对其蜕皮周期的影响以及在肝胰腺中的富集情况等问题在国内外尚无人开展相关研究。因此,本文研究了水体中添加一定浓度的 Cu²⁺后对虾各组织中 Cu²⁺的积累情况,研究了不同 Cu²⁺来源对对虾蜕皮率和生存的影响,并分析了蜕皮行为对对虾进行重金属解毒的机制。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验所用凡纳滨对虾于 2007 年 7 月 11 日购于青岛市宝荣水产养殖有限公司,体色正常,健康活泼,体长(7.0±0.5) cm,体重(5.0±0.5) g。买回后用青岛近海海水暂养于 0.6 m³ 的玻璃钢材料方缸中,暂养 15 d。暂养期间连续充气,保证溶氧充分,1 d 换两次水,分别于早、中、晚及夜间按体重的 5% 投喂“海森特”牌配合饵料。正式实验在 618 mm×430 mm×313 mm 的蓝色塑料箱中进行,实验期间水温为(24±0.5)℃,pH 为 7.7,盐度为 29,连续充气,溶氧量保持在 8.2 mg·L⁻¹ 左右,光照/黑暗为 14 h/10 h。所有实验用虾均选用蜕皮间期的个体,蜕皮时期以显微镜下腹足的表皮结构作为判断依据^[8-10]。

养殖用海水 Cu²⁺的本底值为 0.01 mg·L⁻¹,实验所需 Cu²⁺采用浓度为 5 g·L⁻¹ 的母液稀释所得。

1.2 实验方法

实验一:研究 Cu²⁺胁迫下对虾组织中铜的积累。
以国药生产的 CuSO₄·5H₂O 作为 Cu²⁺来源,参考相关学者的实验结论^[3],实验选用 Cu²⁺的浓度梯度为 1、4、7、10 和 15 mg·L⁻¹,自然海水作为空白对照,每

个浓度梯度设两个重复,每个箱内盛 30 L 海水,放养 20 尾虾。实验期间不投喂,不换水,其他条件同暂养,实验持续 4 d(96 h)。实验开始后分别于 48 h、96 h 后取样。取样时,在实验塑料箱中随机选取 2 尾对虾,用干毛巾擦干对虾体表,置于冰盘内迅速解剖,取其肝胰腺及尾部肌肉和甲壳,分别用预冷双蒸水清洗干净,置于 5 mL 离心管中,冷冻于-20℃冰箱中待测。所采样品在冷冻干燥机中干燥 48 h 至恒重后称重,依照《海洋监测规范》(GB 17378.6—1998)加分析纯的 HNO₃ 和 H₂O₂ 消化后,定容至 10 mL 比色管中,采用 ICP-MS 仪器测定溶液中 Cu²⁺的含量。

实验二:研究不同 Cu²⁺来源对对虾蜕皮率和死亡率的影响。

结合上述实验过程中的现象和结论,选用 5、10、15、20 和 30 mg·L⁻¹ 的 Cu²⁺浓度梯度进行实验,每个处理设两个重复,分别以国药生产的 CuSO₄·5H₂O 和 CuCl₂·2H₂O 作为 Cu²⁺来源,配置和稀释方法同上,自然海水作为对照组,每个箱内盛 20 L 海水,放养 10 尾对虾,养殖管理同暂养条件和实验一,实验持续 4 d(96 h)。实验开始后分别于 12、24、36、48、60、72、84 和 96 h 统计其蜕皮率和死亡率。蜕皮数量以前胸甲的数量作为判断依据^[11],死亡对虾计数后,从实验箱中捞出,以免影响水质。

1.3 数据处理

所有结果均以 2 个重复组数据的平均值表示。

2 结果

实验一中 Cu²⁺各处理浓度的实测浓度如表 1 所示。

表 1 实验一中 Cu ²⁺ 在各处理浓度中的实测浓度 Table 1 The tested copper concentrations of each pre-designed concentration in experiment one					
设计浓度 /mg·L ⁻¹	1	4	7	10	15
实测浓度/mg·L ⁻¹	0.58	0.85	1.89	1.91	2.32

2.1 Cu²⁺浓度为 15 mg·L⁻¹ 处理下对虾肌肉和甲壳中铜的积累

Cu²⁺浓度为 15 mg·L⁻¹ 处理下对虾肌肉和甲壳中铜的积累情况如图 1 所示。从中可以看出,肌肉中 Cu²⁺的积累量,在 48 h 时候达到最大值 31.36 μg·g⁻¹ (干重);在 96 h 时,肌肉中 Cu²⁺浓度降到 17.0 μg·g⁻¹ (干重)。甲壳中 Cu²⁺的积累随着时间的推移而逐渐增加,由初始时刻的 16.01 μg·g⁻¹ (干重),到 96 h 末达到最大值 69.43 μg·g⁻¹ (干重)。

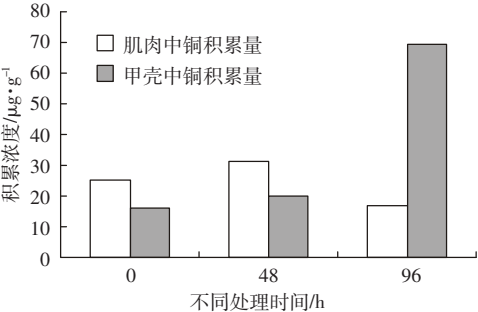


图 1 Cu²⁺浓度为 15 mg·L⁻¹ 处理下对虾肌肉和甲壳中铜的积累

Figure 1 Copper in muscle tissues and exoskeleton of *L. vannamei* treated by 15 mg·L⁻¹ of copper

2.2 肝胰腺中铜的积累

肝胰腺中 Cu²⁺的积累量如图 2 和图 3。从中可以看出,无论是 48 h 末,还是 96 h 末,不同浓度 Cu²⁺处理下,肝胰腺中 Cu²⁺的积累量,都是随着处理浓度的不断增加,积累量出现先增加后降低的趋势。48 h 末,对照组、1、4、7、10 和 15 mg·L⁻¹ 处理组中肝胰腺中 Cu²⁺的积累量分别为:692.68、1 545.12、1 883.33、3 473.44、4 252.78 和 2 552.63 μg·g⁻¹ (干重),在 10 mg·L⁻¹ 处理下达到峰值。96 h 末,对照组、1、4、7、10 和 15 mg·L⁻¹ 处理组中肝胰腺中 Cu²⁺的积累量分别为:692.6、2 085.29、4 015.66、6 616.67、5 170.69 和 4 116.13 μg·g⁻¹ (干重),在 7 mg·L⁻¹ 处理下达到峰值,然后开始下降。并且与 48 h 相比,96 h 各处理浓度下肝胰腺中 Cu²⁺的积累量明显增加,实验结果表现出一定的时间-剂量效应。

2.3 不同 Cu²⁺来源对对虾蜕皮率和死亡率的影响

不同 Cu²⁺来源对对虾的死亡率不同,结果如图 4 和图 5。其中 CuCl₂·2H₂O 处理下死亡率在 10 和 20 mg·L⁻¹ 较大,分别为 40%和 60%;对照、15 和 30 mg·L⁻¹ 时死亡率都是 10%,在 5 mg·L⁻¹ 处理中无对虾死亡。CuSO₄·5H₂O 处理下,对照、5、10、15、20 和 30 mg·L⁻¹ 处理死亡率分别为:10%、10%、30%、40%、20%和 50%,除 20 mg·L⁻¹ 外,基本呈现出一定的剂量-效应关系。

不同 Cu²⁺来源对蜕皮率的影响如图 6 和图 7。CuCl₂·2H₂O 来源下蜕皮率在对照组、5、10、15、20 和 30 mg·L⁻¹ 处理下分别为 0、20%、40%、30%、30%和 30%。在 10 mg·L⁻¹ 处理下达到最大值,之后基本一致,表现出一种“饱和”效应。CuSO₄·5H₂O 来源下蜕皮率在对照组、5、10、15、20 和 30 mg·L⁻¹ 处理下分别为:0、20%、50%、20%、30%和 40%,在 10 mg·L⁻¹ 处理下达到最大值,之后又出现一个逐渐增加的趋势。

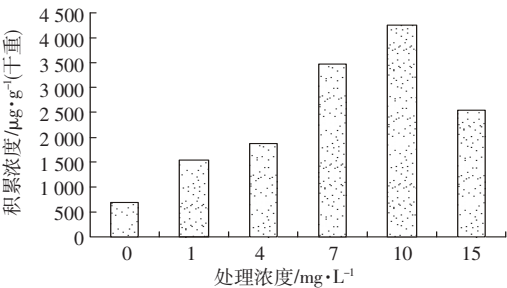


图 2 48 h 不同 Cu²⁺浓度处理下肝胰腺中铜的积累
Figure 2 Copper in the hepatopancreas of *L. vannamei* treated for 48 h with different concentration

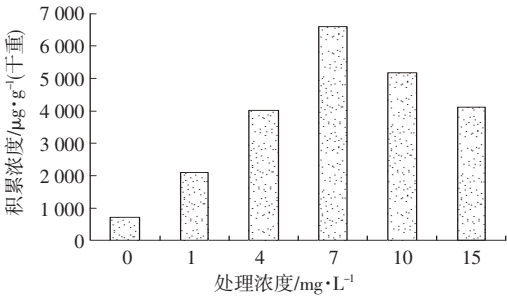


图 3 96 h 不同 Cu²⁺浓度处理下肝胰腺中铜的积累
Figure 3 Copper in the hepatopancreas of *L. vannamei* treated for 96 h with different concentration

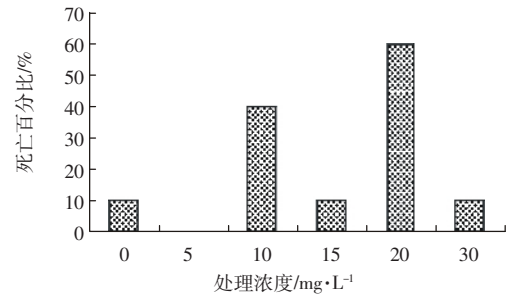


图 4 来源于 CuCl₂·2H₂O 的不同 Cu²⁺浓度处理下的死亡率
Figure 4 The mortality of *L. vannamei* treated by different copper concentration of CuCl₂·2H₂O for 96 h

3 讨论

从 Cu²⁺在凡纳滨对虾不同组织中的积累情况来看,肝胰腺是最重要的富集器官,在 15 mg·L⁻¹ 浓度处理下,96 h 末积累量为 4 116.13 μg·g⁻¹ (干重),肌肉和甲壳中积累量分别为 17.0 和 69.43 μg·g⁻¹ (干重),相较于前者而言,富集量少了近两个数量级。这与国内外相关研究结论基本是一致的:对野生加州对虾 (*Penaeus californiensis*) 不同组织中重金属的积累和分布情况的研究表明,无论是雌虾还是雄虾,肝胰腺中除 Mn 元素外,所有调查的重金属 Cu、Fe、Zn 和 Cd 等,肝胰腺中的积累量均高于甲壳和肌肉等组织^[12]。罗氏

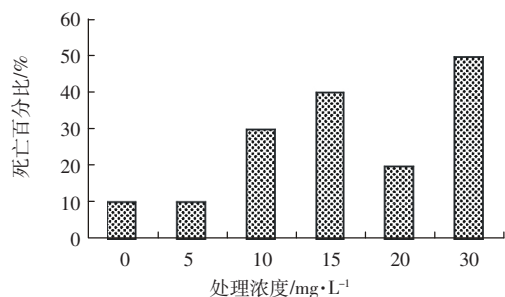


图 5 来源于 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 的不同 Cu^{2+} 浓度处理下的死亡率

Figure 5 The mortality of *L. vannamei* treated by different copper concentration of $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ for 96 h

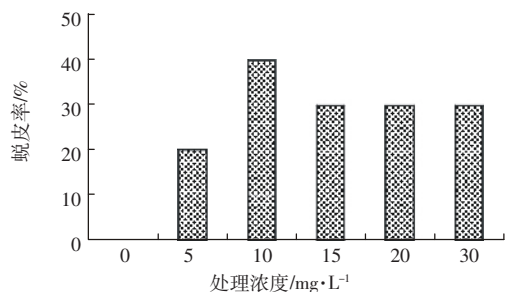


图 6 来源于 $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 的不同 Cu^{2+} 浓度处理下的蜕皮率

Figure 6 The moult rate of *L. vannamei* treated by different copper concentration of $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ for 96 h

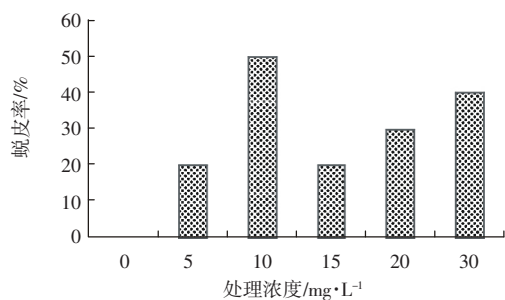


图 7 来源于 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 的不同 Cu^{2+} 浓度处理下的蜕皮率

Figure 7 The moult rate of *L. vannamei* treated by different copper concentration of $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ for 96 h

沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 对 Cu^{2+} 的富集, 在 Cu^{2+} 浓度高于 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 后, 鳃丝和甲壳中铜的积累量变化不大, 而肝胰腺中 Cu^{2+} 的积累量相较两者而言, 明显增加^[13]。对于凡纳滨对虾而言, 无论是从墨西哥北部野外海域中捕捞虾的调查中, 还是对附近养殖场养殖对虾的检测中, 均发现对重金属 Cd 积累的主要器官是肝胰腺^[12, 14]。螃蟹中的积累情况也基本类似^[15]。凡纳滨对虾对 Cd 和 Zn 的富集实验也表明, 肝胰腺相较于鳃丝和肌肉而言, 对两种重金属的积累量也明显增高^[16]。

实验表明, 96 h 肝胰腺中 Cu^{2+} 的积累量平均值高于 48 h 的积累量平均值, 呈现出一定的时间-效应关系; 但在同一时间不同浓度处理时, 肝胰腺中 Cu^{2+} 的

积累却呈现出先增加、后降低的趋势, 没有出现在罗氏沼虾中的剂量-效应关系^[13]。有研究表明, 在低浓度 Zn^{2+} ($0.18 \sim 0.78 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 作用下, 中国对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 肝胰腺的肝小管分泌细胞增多, 吸收细胞数量减少, 而高浓度 ($8.04 \sim 125.89 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 导致肝小管内分泌细胞胞体破裂, 部分肝管破坏^[17]。在罗氏沼虾和中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensi*) 中均发现相同的组织学现象^[18, 19]。由此, 我们推测, 在 48 h, 在 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cu^{2+} 处理下, 肝胰腺还能维持正常的生理代谢, 合成 MT 克服金属铜的毒性; 当 Cu^{2+} 浓度达到 $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 肝胰腺组织结构受到破坏, 肝小管分泌细胞破裂等, 肝胰腺合成 MT 能力降低, 进而导致从鳃丝中转移到肝胰腺中 Cu^{2+} 的量减少; 96 h 的结论更进一步地说明了这一现象: 随着时间的延长, Cu^{2+} 对肝胰腺的组织伤害积累量增加, 导致在 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时就已形成严重机械伤害而丧失功能, 因而肝胰腺中 Cu^{2+} 的积累量高峰出现在 $7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

对于肌肉中 Cu^{2+} 的积累量也没有出现时间-剂量效应关系, 而是表现出先增加后降低的趋势, 这可能与对虾的蜕皮行为有关。在不同 Cu^{2+} 来源对对虾的蜕皮实验中均发现, 无论哪种 Cu^{2+} 来源, 短期内均能明显刺激对虾的蜕皮, 并且甲壳中 Cu^{2+} 的积累量是随着时间一直增加的。因此, 我们推测, 凡纳滨对虾对重金属铜的解毒, 是通过两条途径来实现: 一条是通过肝胰腺, 类似于斑节对虾通过肝胰腺中诱导合成的 MT 与金属铜结合, 通过肝小管分泌细胞的分泌及代谢作用, 将 Cu^{2+} 通过代谢的细胞以结合态的形式通过排便这一途径代谢出去^[20]; 另一条, 从肝胰腺转移到肌肉中的 Cu^{2+} 向甲壳中转移, 进而通过蜕皮行为, 将大量的 Cu^{2+} 转移到身体之外, 降低肌肉中 Cu^{2+} 的含量, 避免 Cu^{2+} 的伤害。这一现象在颗粒张口蟹 (*Chasmagnathus granulata*) 和豆蟹 (*Tunicotheres moseri*) 中均得到发现^[21, 22], 但对于凡纳滨对虾, 具体机制是否这样, 还有待于进一步的实验来验证。

实验中不同 Cu^{2+} 来源对凡纳滨对虾的蜕皮行为影响差异不大, 短期内都明显刺激了对虾蜕皮行为的发生, Cu^{2+} 在 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时蜕皮率最高, Cu^{2+} 浓度太高或太低, 刺激效果都不是很明显 (如图 6 和图 7)。对于其他甲壳动物, 颗粒张口蟹在 10 和 $50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cu^{2+} 作用下也刺激了其蜕皮的发生, 缩短了蜕皮周期, 而在 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cd^{2+} 胁迫下, 却显著抑制其蜕皮^[22]。这可能与 Cu^{2+} 的特殊性有关, Cu^{2+} 是甲壳动

物中血蓝蛋白的重要组成成分,因此,少量的 Cu^{2+} 对对虾是有益的,过量后就有害了,比如会导致死亡率的增加(如图 4、图 5)。两种 Cu^{2+} 来源下,对凡纳滨对虾的毒性表现出一种复杂的关系,并且各自的结果也不甚相同,这可能与海水的成分有关系。由于天然海水中是存在大量 Cl^- 的,而 SO_4^{2-} 却是相对较少的,加入溶液后,不同离子之间发生关系和耦合,最终导致不同的毒性效应,因而两种 Cu^{2+} 来源产生不同的结论。这种复杂的离子耦合关系对对虾毒性的影响,值得进一步的研究。并且,在做 Cu^{2+} 对凡纳滨对虾影响实验的时候,建议采用 $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 更加具有说服力。

参考文献:

- [1] 张伟权.南美白对虾(*penaeus vannamei* Boone, 1931)半精养生产技术指南[M]. 北京:海洋科学编辑部出版, 1994.
ZHANG Wei-quan. Semicultural manual of *penaeus vannamei* boone, 1931[M]. Beijing:Mar Sci Press, 1994.
- [2] 王克行.虾蟹类增殖养殖学[M].北京:中国农业出版社, 1997. 20-34.
Wang Ke-xing. Shrimps, prawns and crabs hyperplasia breeding[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1997. 20-34.
- [3] Yeh S T, Liu C H, Chen J C. Effect of copper sulfate on the immune response and susceptibility to vibrio alghioliticus in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. *Fish & Shellfish Immunology* 2004,17: 437-446.
- [4] Bambang Y, Thuet P, 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.
- [5] 吴众望,潘鲁青. 重金属离子对凡纳滨对虾鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力的影响[J]. 海洋环境科学, 2004, 23(3): 27-29.
WU Zhong-wang, PAN Lu-qing. Effects of heavy metal ions on $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity in gill of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Mar Environ Sci*, 2004, 23(3): 27-29.
- [6] 吴众望,潘鲁青. 重金属离子对凡纳滨对虾肝胰脏 MT 含量的影响[J]. 水产学报, 2005, 29(5): 715-718.
WU Zhong-wang, PAN Lu-qing. Effects of heavy metal ions on metallothionein concentration in hepatopancreas of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2005, 29(5): 715-718.
- [7] Chen J C, Lin C H. Toxicity of copper sulfate for survival, growth, molting and feeding of juveniles of the tiger shrimp, *Penaeus monodon* [J]. *Aquaculture*, 2001, 192(1): 55-65.
- [8] Passano L M. Molting and its control[C]//Waterman, T H (Ed.). The physiology of crustacea. Academic Press, New York, 1960. 473-536.
- [9] Vight D.A, Fingerman M. Molt staging in the fiddler crab *Uca pugnator* [J]. *J Crust Biol*, 1985,5: 386-396.
- [10] Chan S M, Rankin S M, Keeley L L. Characterization of the molt stages

- in *Penaeus vannamei*: Setogenesis and hemolymph levels of total protein, ecdysteroids, and glucose[J]. *Biol Bull*, 1988,175: 185-192.
- [11] 黄国强,董双林,王 芳. 饵料种类和摄食水平对中国对虾蜕皮的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2004, 34(6): 942-948.
HUANG Guo-qiang, DONG Shuang-lin, WANG Fang. Effects of diet differences and ration levels on the molting of Chinese shrimp, *fen-neropenaeus chinensis*[J]. *J Ocean Univ China*, 2004, 34(6): 942-948.
 - [12] Paez-Osuna F, Ruiz-Fernandez C. Trace metals in the Mexican shrimp *Penaeus vannamei* from estuarine and marine environments[J]. *Environ Pollut*, 1995(87): 243- 247.
 - [13] Li N, Zhao Y L, Yang J. Accumulation, distribution, and toxicology of copper sulfate in juvenile giant freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2005, 75(3): 497-504.
 - [14] Paez-Osuna F, Tron-Mayen L. Concentration and distribution of heavy metals in tissues of wild and farmed shrimp *Penaeus vannamei* from the northwest coast of Mexico[J]. *Environ Int*, 1996, 22: 443- 450.
 - [15] Turoczy N J, Mitchell B D, Levings A H, et al. Cadmium, copper, mercury, and zinc concentrations in tissues of the king crab *Pseudocarcinus gigas* from southeast Australian waters[J]. *Environ Int*, 2001, 27: 327- 334.
 - [16] Wu J P, Chen H C. Metallothionein induction and heavy metal accumulation in white shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to cadmium and zinc[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology*, 2005, 140(3-4): 383-394
 - [17] 张克俭. 锌和氨氮对对虾肝胰腺的毒性作用[J]. 水产学报,1993, 17 (3): 52-59.
ZHANG Ke jian. Toxication of Zn^{2+} and $\text{NH}_3 - \text{N}$ on hepatopancreas of *penaeus orientalis* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1993, 17(3): 52-59.
 - [18] Li N, Zhao Y L, Yang J. Impact of waterborne copper on the structure of gills and hepatopancreas and its impact on the content of metallothionein in juvenile giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea : Decapoda)[J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2007,52: 73-79.
 - [19] Yang Z B, Zhao Y L, Li N,et al. Effect of waterborne copper on the microstructures of gill and hepatopancreas in *eriocheir sinensis* and its induction of metallothionein synthesis[J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2007, 52 : 222-228.
 - [20] Vogt G, Quintio E T. Accumulation and excretion of metal granules in the prawn, *Penaeus monodon*, exposed to water-borne copper, lead, iron and calcium[J]. *Aquatic Toxicology*, 1994, 28(3-4): 223-241.
 - [21] Greco L S L, Bolanos J. Survival and molting of the pea crab larvae *Tunicotheres moseri* Rathbun 1918(Brachyura, Pinnotheridae), exposed to copper[J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2000,40: 505-510.
 - [22] Greco L S L, Sanchez M V, Nicoloso G L, et al. Toxicity of cadmium and copper on larval and juvenile stages of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Brachyura, Grapsidae) [J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2001, 41(3): 333-338.