

聚乙烯吡咯烷酮碘在对虾养殖中的应用研究及生产实验

李天保 赵增元 王勇强 任杰顺
杨秀生 杨晓岩 王颖 王淑君
(山东省海水养殖研究所)

宋万水

(乳山市对虾育苗场)

聚乙烯吡咯烷酮碘 (PVP-I) 在养殖生产中应用较少, 对其在虾病防治这一领域中应用的基础问题还缺乏了解, 例如加工过程中的损失, 药饵的保存环境及贮存期的不稳定性, 投喂后在水中的溶失情况, 对虾摄食后在体内的吸收、分布与排泄等参数, 本文就以上问题进行了系列实验, 并根据实验结果获得的参数制定了药饵加工、保存、投喂等生产应用方案, 通过室内小规模实验及生产性实验, 表明有较好的效果。

1. 实验方法

1.1 PVP-I 药饵中碘含量的测定

1.1.1 药饵制做过程中碘含量的损失

将配合饵料原料粉碎后过筛, 然后按饵料总量的 1.4% 的比例即 0.28mg/g 有效碘把 PVP-I 分别以固体和溶液的形式添加至饵料中, 用绞肉机挤压成型, 分别于 8—12°C 的室温下凉干, 及在 50°C 烘箱中放置 24 小时烘干。对 4 份样品有效碘含量分析, 与理论添加量比较。

样 品	PVP-I 添加方式	干 燥 方 式
1	固 体	凉 干
2	固 体	烘 干
3	溶 液	凉 干
4	溶 液	烘 干

1.1.2 药饵在不同贮存温度下碘含量的连续测定

把 1.1.1 中 1[#]、3[#] 样品各分成二份, 分别记为 1—1[#]、1—2[#]、3—1[#]、3—2[#] 样品。将 1—1[#]、3—1[#] 样品置于 5°C 冰箱中保存。1—2[#]、3—2[#] 样品置于 40°C 温箱中保存, 定期对样品进行碘含量测定, 根据测定结果做出衰减曲线, 计算半衰期。

1.1.3 碘含量测定方法

测试工作在青岛海洋大学化学系进行, 采用碘离子选择性电极法。

1.2 PVP-I 在对虾体内过程实验

1.2.1 药物饵料的加工制作

使用普通配合饵料原料 260 克, 鲜杂鱼 70 克, 将鲜杂鱼绞浆。取 PVP-I 7.0 克, 与饵料原料充分混合后拌入鱼浆, 使用小型绞肉机将其制成颗粒饵料, 自然凉干后备用。

1.2.2 实验样本的获取

实验在乳山市对虾育苗场进行, 使用室内水泥池, 池底面积 14 平方米, 水深 35 厘米, 水体约 5 立方米, 实验用水来自该育苗场水系统, 经砂滤、漂白粉消毒、中和余氯并充分曝气后用于实验。实验虾取自本场 2 号池, 平均体长 8.61 厘米, 暂养 24 小时后投喂超量药饵, 并在投喂开始后 1.5 小时、3 小时、6 小时、12 小时、24 小时、及 48 小时分别取实验虾 10 尾速冻作为样本。对虾摄饵为 1.5 小时, 1.5 小时后将残饵清除。整个实验过程连续充气, 实验期间水化学指标如下: 水温: 27.5—30°C; 溶氧: 6.9—7.0 mg/L; 盐度: 20.5; pH: 8.64

1.2.3 对虾体内含碘量的分析测定

样品在取样后一直在 -20°C 左右保存, 分析测定前按取样时间分组解剖, 各组内样品虾的肝胰腺、肌肉及消化道分别合并称重后进行分别测定, 测定方法使用亚硝酸—尿素法, 由中国科学院海洋研究所海藻化学室配合进行。

1.3 生产中使用 PVP-I 的实验

1996 年在对虾养殖全过程进行了应用 PVP-I 预防暴发性流行病实验。主要措施如下: (1) 育苗阶段消毒虾卵, 幼体培育时期定期投喂药物饵料。(2) 养成阶段定期投喂药物饵料。

消毒虾卵用 PVP-I 溶液浓度: 5×10^{-6} 有效碘。

从亲虾培育池中收集虾卵, 洗卵后将卵装入网箱中, 将网箱轻放至 PVP-I 溶液中消毒 30 秒, 然后将卵倒入培育池中孵化、培育。待幼体发育至蚤虫状幼体后, 投喂 PVP-I 药饵, 每天投喂二次, 投喂三天, 停顿三天, 直至幼体出池。育苗阶段实验水体 158.5 立方米。养成实验面积 75.3 亩, 共投放 1 厘米虾苗 152.5 万尾。在开始投喂配合饵料后即按投喂五天, 停顿五天的投喂计划投喂药饵。药饵是在养成生产前由饵料加工厂按 PVP-I 占饵料总重的 1% 加工制成。在仔虾出池时以及养成期间定期取样, 用核酸探针检测样品携带病毒的情况。

2. 结果

2.1 PVP-I 药饵中含碘量的测定

表 1. 不同添加和干燥方式对碘含量的影响

样 品	PVP-I 添加方式	干 方 式	有 效 碘 添 加 量 (mg/g)	测 定 结 果 (mg/g)	碘 损 失 率 (%)
1	固 体	凉 干	0.28	0.28	0
2	固 体	烘 干	0.28	0.32	0
3	液 体	凉 干	0.28	0.25	10.7
4	液 体	烘 干	0.28	0.27	3.6

此结果显示 PVP-I 配成溶液添加至饵料原料中, 饵料制成后碘含量会造成一些损失。凉干一组损失较多。

2.2 不同贮存温度对碘损失的影响

表 2. 贮存温度对碘损失的测试结果

样品	贮存温度 °C	公式及相关系数
1-1	5	$MI_2 = 0.284 - 0.000581t$ $r = -0.95$
1-2	10	$MI_2 = 0.284 - 0.000824t$ $r = -0.94$
3-1	5	$MI_2 = 0.263 - 0.000529t$ $r = -0.95$
3-2	40	$MI_2 = 0.227 - 0.000622t$ $r = -0.94$

公式中 MI_2 为样品中碘的含量,单位:mg/g, t 为饵料存放的时间,单位:天。经 140 天测试,由四个样品 t, MI_2 拟合出以上四个公式。根据公式计算饵料中碘的半衰期分别是: 1-1# 样品 247 天; 1-2# 样品 175 天; 3-1# 样品 242 天; 3-2# 样品 177 天

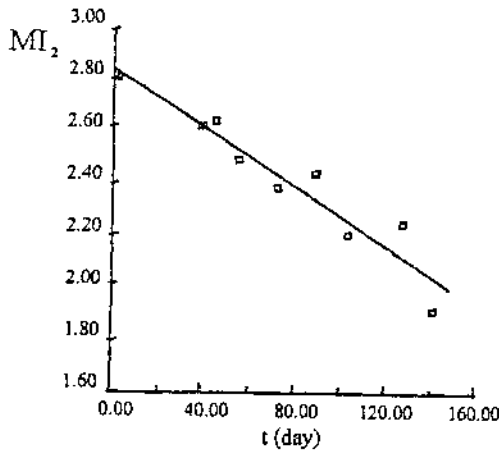


图 1. 1-1# 样品在贮存过程中碘含量变化曲线

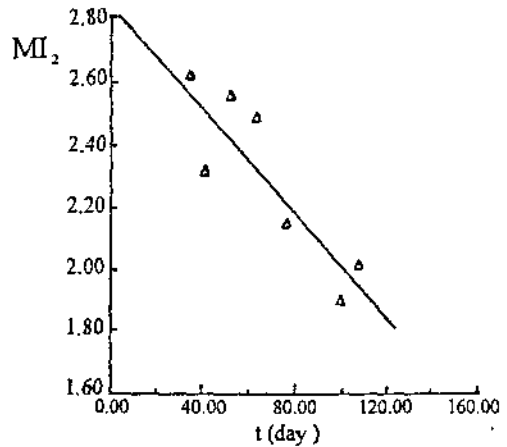


图 2. 1-2# 样品在贮存过程中碘含量变化曲线

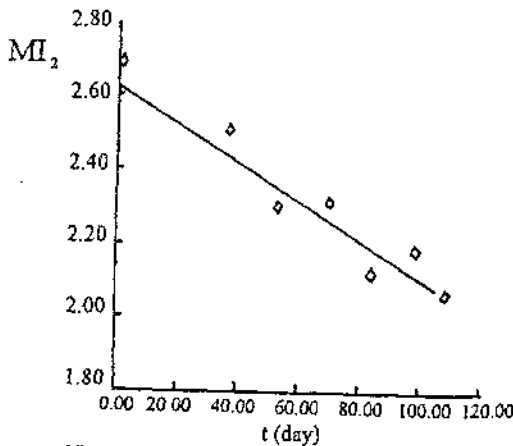


图 3. 3-1# 样品在贮存过程中碘含量变化曲线

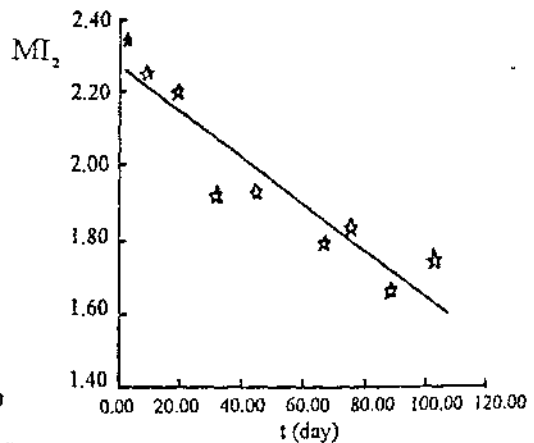


图 4. 3-2# 样品在贮存过程中碘含量变化曲线

2. 3PVP—I 在对虾体内的过程

经测定在对虾消化道样品中可测到较高浓度的碘，而肝胰腺和肌肉中均测不出碘的存在，其测定结果见表 3，消化道中碘浓度变化曲线如图 5 所示。

表 3. 投饵后不同时间对虾组织中碘浓度 (μg/g)

	1.5h	3h	6h	12h	24h	48h
消 化 道	215	240	150	100	90	—
肝 胰 腺	—	—	—	—	—	—
肌 肉	—	—	—	—	—	—

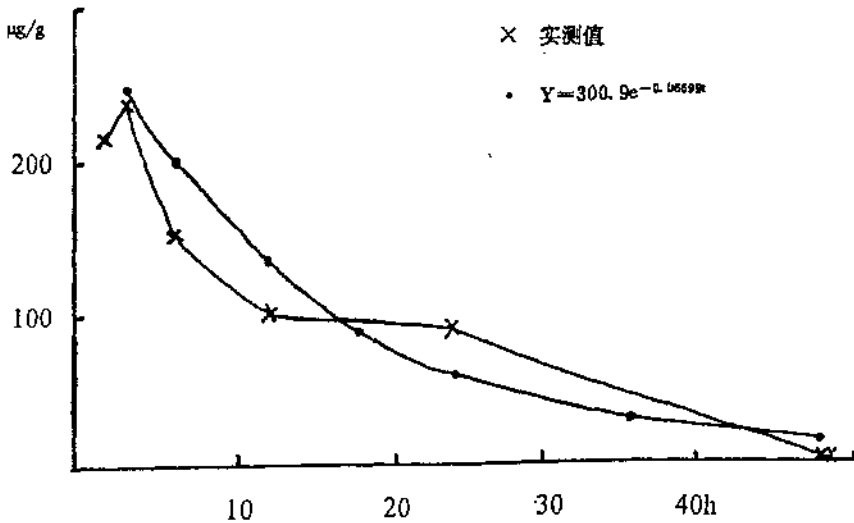


图 5. 对虾消化道内碘浓度变化曲线

测定结果表明，PVP—I 经口摄入后基本不吸收，在消化道中可保持较高的浓度，摄食后即可到达峰值，其浓度随时间的变化亦有较好的规律性，经回归分析可拟合以下指数方程：

$$Y = 300.9e^{-0.06699t}$$

相关系数 $r = 0.9763$

上式中 Y 为消化道中碘浓度 (μg/g)，t 为对应的投饵后时间 (h)。回归曲线见图 5。根据此方程可进行消化道中碘浓度与投饵后时间间隔的相互换算，如：

当 Y = 200 时 $t_1 = 6.09$ 小时

当 Y = 100 时 $t_2 = 16.14$ 小时

消化道中碘的半衰期则为 $T_{0.5} = t_2 - t_1 = 16.14 - 6.09 = 10.05$ 小时

消化道样品中包括胃肠组织及摄食的饵料，各组消化道样品重量如下：

1. 5h 组	3h 组	6h 组	12h 组	24h 组	48h 组
2. 34g	2. 18g	2. 10g	1. 60g	1. 20g	1. 00g

分析以上数据可知,随着投饵后时间推移,消化道不断排空,样品重越来越小,排空的消化道组织约占饱胃时样品重量的一半。因为碘在消化道中基本不吸收,组织中含碘量可以认为是零,所以估计消化道内容物中含碘量峰值几乎可达到实测值的两倍。根据 PVP—I 的杀菌效果实验及病毒灭活实验结果(见“聚烯吡咯烷酮碘对病原体杀灭效果的研究”一文),可以肯定使用 PVP—I 制成药物饵料在对虾消化道中发挥消毒杀菌作用来预防对虾传染病的经口感染是有效可行的手段。

2.5 生产中使用 PVP—I 的实验

2.5.1 育苗阶段使用结果

表 5. 育苗阶段使用结果

	水 体 (M ³)	无 节 幼 体 (万尾)	出 池 仔 虾 数 (万尾)	育 成 率 (%)
实 验 池	158.5	4760	1082.1	22.7
对 照 池	159.4	4450	713	16.0

实验池幼体培育成活率(N—P₂) 22.7%, 对照组(N—P₃) 16%, 实验池比对照组据高 41.87%。

2.5.2 养成阶段使用结果

表 6. 养成阶段使用结果

	面 积 (亩)	投 苗 量 (万尾)	产 量 (公斤)
实 验 池	75.3	152.5	2337.8
对 照 池	98.4	164.8	169.4

对照池 6 月 27 日发病,至 7 月上旬偶尔能看到存活的对虾,没有收获,清理虾池时收虾 169.4 公斤。实验池对虾没有发生暴发性流行病,8 月 11 日现场验收时对虾平均体长 8.54 厘米,平均体重 7.75 克,比对照池延长养殖时间 45 天,仍未发病,由于该单位其它虾池收虾影响了实验池的进排水以及治安因素,才将实验池对虾收获,产量达 2337.8 公斤。

表 7. 核酸探针检测结果

样 品	1	2	3	4	5
取 样 时 间	5.11	6.19	7.4	7.19	8.4
结 果	+	-	-	+	±

上表显示的测试结果没有规律性,阳性、阴性结果交替出现,造成这种结果的原因将在讨论中分析。

3. 讨论

PVP—I 是聚乙烯吡咯烷酮剂络合物,是一种缓放性较好的高分子,特别是口服,较

大剂量也不会对对虾造成危害。研究中发现,虽然用其消毒虾卵会造成孵化率下降约16%,但是生产中使用消毒卵培育池的幼体培育成活率比用未消毒卵的培育池高41.87%。据此结果,产量的提高可弥补孵化率下降所造成的损失。此外,中国对虾病毒性暴发性流行病是否存在获得性垂直传播尚无确切结论,根据李天保等对对虾卵带菌量的检查结果,每克提带异养菌总量为 5.6×10^6 ,洗卵后仍有 2.6×10^6 个。因此,不论从预防病毒病还是预防细菌病方面出发,我们认为消毒虾卵措施值得在生产中推广。

PVP—I 是高分子物质络合的有机碘,具有比较好的稳定性,而普通碘分子则极易散失。PVP—I 的作用机理是接触有机物释放出碘原子杀灭病原体,这也是 PVP—I 药饵中有机碘丧失的原因所在。根据药饵中有效碘衰减测试,结果表明干燥的饵料中半衰期都比较长,5°C 环境下贮存半衰期近 250 天,40°C 环境下为 170 余天。饵料加工过程,PVP—I 以固体加入到原料中,饵料做成后碘含量应有所降低,但测试结果则不尽相同。从化学分析角度来讲,面体间相互混合,特别是饵料颗粒较,不论怎样取样都存在样品的不均匀性,因而会造成测试误差。因此,测试中 PVP—I 以固体形式加入碘的含量测试结果,可能由测试误差所造成。而以溶液形式加入到饵料中比面态形式碘的损失明显,是由于配合饵料原料成份复杂,PVP—I 溶液加入后,湿病时间较长,原料中的还原物质将碘原子还原为碘离子所致。

核酸探针检测样品中病毒携带情况,检测不是逐尾进行的,给出的是一混合样品的结果,这一结果不能说明整池对虾带毒与否。核酸探针法是一种非常灵敏的病毒检测方法,极少量 DNA 的存在就可能决定测试的结果。测试仔虾样品中仔虾致量较幼虾多,带毒虾出现的机率也较大。另外,虾菌放入养殖池后首先淘汰的也可能是带毒虾苗,这时的样品中带毒虾出现的可能性亦较虾苗时小,所以造成先阳性后阴性的测试结果。实验中受实验材料限制没有对阳性率进行测试,影响了对这一问题的分析。如果中国对虾暴发性流行病存在垂直传播,单纯依靠 PVP—I 也不能解决虾苗的带毒问题。

本研究虽然取得较好的结果,但是也存在不足之处,PVP—I 是一种消毒剂类药物,口服后在消化道内保持一定浓度有效碘,杀灭病原体的同时,也破坏了消化道正常菌群,如何避免这一副作用,待今后在 PVP—I 的使用方法上做进一步探讨。

参 考 文 献

- (1) 赵增元等,1995. 使用漂白粉改善对虾池水环境的研究,《齐鲁渔业》,(3) 27—30。
- (2) 李天保等,1992. 洗卵对对虾受精卵孵化率影响的初探,《海水养殖》,(1、2), 49—52。
- (3) 王勇强等,1996. 中国对虾体内两种抗菌药物的药动力学研究,《第二届全国人工养殖对虾疾病综合防治和环境管理学术研讨会论文集》,青岛海洋大学出版社,149—152。
- (4) 秦元清等,1991. 聚乙烯吡咯烷酮碘分解规律的探讨,《延边医学院学报》,(12), 268—271。
- (5) 桃山和夫,1988. 数种消毒剂的クルマエビの受精卵およびノウブリウスに対する毒性,《山口县内海水产试验场报告》第 18 号。