

饵料与生态实验教案

陈学豪 王雪虹 周立红

集美大学水产学院

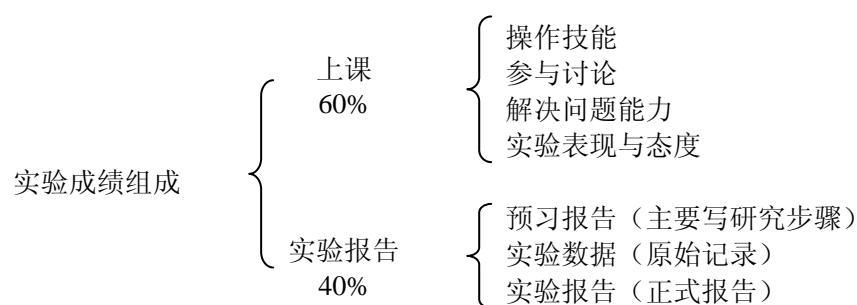
二〇〇九年二月

一、总体目标

通过本实验课，使学生对生物饵料培养、水产品污染物的检测和生态学的原理有更直观认识及验证；学习生物饵料培养和水产品污染物的检测方法、以及生态学问题的研究方法，培养独立思考问题、解决问题的能力；通过亲自实践激发学生对这方面研究的兴趣。

二、课程要求

1、本实验成绩由几部分组成：



2. 学习流程：

- ①课前预习（写出预习报告，主要针对如何进行实验的步骤。1份/人）；
- ②课上组内讨论（10~20'）；
- ③得出实验具体方案（写成文字，1份/组）；
- ④与教师探讨方案（教师给出指导性建议，但不强行要求统一，允许各组有自己的设计）；
- ⑤开始实验；
- ⑥实验记录（观察、数据等，1份/人）；
- ⑦实验报告（1份/人）；⑧小组总结报告（分析实验的得失，提出建议，1份/组）。

第一讲：4 学时

实验一 生物饵料培养

- 1、光合细菌和微藻的形态观察
 - 2、光合细菌和微藻培养液的配制
- 附：器皿的消毒与灭菌

一、教学目的：

- 1、观察光合细菌和常见微藻的形态特征；
- 2、学习光合细菌和微藻培养液的配制；
- 3、学习器皿的消毒灭菌知识；清洗好实验用的器皿，为以后的实验做好准备。

二、教学重点：

- 1、光合细菌和常见微藻形态特征的观察，学会辨认；
- 2、掌握光合细菌和微藻培养液的配制；
- 3、掌握培养瓶的清洗与消毒的方法。

三、教学难点：

- 1、光合细菌和常见微藻形态特征的观察
- 2、微藻培养液母液的配制
- 3、如何清洗和判断培养瓶已清洗干净。

四、教学方法：

- 1、预习法：学生在上课前需预习本次所做实验的内容和步骤，并写出实验预习报告；
- 2、讲解法：将本次的实验内容、步骤和注意事项进行讲解说明；
- 3、疑问法：讲解后学生开始自己动手操作实验，如有疑问可举手请教师指导。

五、教学用具：

1、形态观察：显微镜 30 台，载玻片，盖玻片，吸管，常见饵料用微藻，鲁哥氏（lugois）液（即碘液）等。

2、培养液配制：分析天平 1 台，粗天平 1 台，称量瓶，药匙，容量瓶 2 个，800-1000 烧杯毫升 10 个，500 毫升试剂瓶 10 个，5 毫升移液管 10 根，1000ml 三角烧瓶 2 个和 50ml 三角烧瓶 15 个蒸馏水（或海水），光合细菌和微藻培养液配方中各药品，1500W 电炉 2 个等。

附：皿的消毒与灭菌：25 毫升锥形瓶 30 个和 500 毫升锥形瓶 15 个，25 或 50 毫升烧杯 30 个，吸管，废报纸，试管刷，肥皂，硫酸，烘箱 1-2 台等。

六、教学过程：（提纲）

实验一 生物饵料培养

（一）光合细菌和微藻的形态观察

（二）光合细菌和微藻培养液的配制

附：器皿的消毒与灭菌：1、培养瓶的清洗；2、酸洗；3、消毒；

七、实验小结：

- 1、实验以 2 人为一组仪器，但实验操作需各人独立完成，锻炼每位学生的操作能力；
- 2、实验安排上下有连贯性，即第一次实验要为下次实验材料。如第一次实验做不好将影响下次实验的结果。

八、作业：

- 1、培养液的配制；
- 2、要求会辨认各种常见微藻类，并绘出观察种类的形态图；
- 3、试比较光合细菌与单胞藻类培养方法的不同之处？

附：器皿的消毒与灭菌：

- 1、收藏好消毒和灭菌后的培养瓶；
- 2、复习消毒和灭菌知识。

附 1：绘生物图的要点：

- 1、生物要选择具代表性或典型性；
- 2、整个图需正立，大小比例适当；
- 3、线条图需且粗细均匀。
- 4、打点要园且分布均匀。

附 2：观察小型生物标本时使用显微镜要领：

- 1、光亮适当调暗，光圈打至最小。
- 2、先在低倍镜下找到生物标本位置，可调至盖玻片边缘易观察到。
- 3、转换至高倍镜下，用微调焦距找到生物标本后，再一手调微调，一手调聚光器，直至生物标本清晰为止。

第二讲：4 学时

实验一 生物饵料培养——微藻的分离与培养

一、**教学目的：**微藻的分离和室内培养方法。

二、**教学重点：**掌握微藻培养与分离方法。

三、**教学难点：**微藻的记数与分离方法。

四、**教学方法：**

- 1、预习法：学生在上课前需预习本次所做实验的内容和步骤，并写出实验预习报告；
- 2、讲解法：将本次的实验内容、步骤和注意事项进行讲解说明；
- 3、疑问法：讲解后学生开始自己动手操作实验，如有疑问可举手请教师指导。

五、**教学用具：**

1、器材：显微镜 30 台，毛细玻璃管，50ml 和 500ml 三角瓶各 15 个，滴管，蒸馏水，25ml 烧杯 15 个，血球计数板和血球计数器各 30 个。

2、材料：小球藻，混合藻种。

六、**教学过程：（提纲）**

实验一 生物饵料培养

微藻的分离与培养：（1）分离；（2）培养；（3）计数。

七、**实验小结：**

- 1、实验以 2 人为一组仪器，但实验操作需各人独立完成，锻炼每位学生的操作能力；
- 2、实验安排上下有连贯性，即第一次实验要为下次实验材料。如第一次实验做不好将影响下次实验的结果。

八、**作业：**

- 1、培养和分离微藻；
- 2、实验报告。

第三讲：4 学时

实验一 生物饵料培养

- 3、轮虫的形态观察与培养
- 4、卤虫卵的质量鉴别与卤虫无节幼体形态观察

一、教学目的：

- 1、观察轮虫和卤虫无节幼体的形态特征、内部器官和摄食习性；
- 2、进一步熟练掌握微藻个体计数法；学习轮虫的计数方法。
- 3、学习褶皱臂尾轮虫 (*Braehionus Phicatilis*) 的实验室培养法。
- 4、学习卤虫卵的鉴别方法。

二、教学重点：掌握轮虫培养和卤虫卵的孵化。

三、教学难点：轮虫的计数和卤虫卵的鉴别。

四、教学方法：

- 1、预习法：学生在上课前需预习本次所做实验的内容和步骤，并写出实验预习报告；
- 2、讲解法：将本次的实验内容、步骤和注意事项进行讲解说明；
- 3、疑问法：讲解后学生开始自己动手操作实验，如有疑问可举手请教师指导。

五、教学用具：

活体臂尾轮虫，小球藻 (*Chorella* sp)，卤虫卵，过滤海水，结晶皿 15 个，0.1ml 定量吸管 5-10 支，血球计数板和血球计数器各 30 个，10、50、100 和 250 毫升量筒，蒸馏水，载玻片与盖玻片，浆糊，标签纸，擦镜纸，纱布，显微镜 30 台，浮游动物计数框 5 个，碘液。

六、教学过程：(提纲)

实验一 生物饵料培养

(一) 轮虫的形态观察与培养

- 1、轮虫的形态观察
- 2、轮虫的培养：
 - ①轮虫计数；②微藻计数；③培养；④观察；

*注意事项：

- ①培养皿务必清洗干净；
- ②蒸馏水、碘液、轮虫和各种饵料所用吸管必须专用；
- ③血球计数板与浮游动物计数框每用完后，须用蒸馏水冲洗干净，用纱布纸揩干。

(二) 卤虫卵的质量鉴别与卤虫无节幼体形态观察

- 1、卤虫卵质量鉴别；
- 2、卤虫无节幼体形态观察。

七、实验小结：

- 1、实验一般以 2 人为一组仪器，但实验操作需各人独立完成，锻炼每位学生的操作能力；
- 2、卵的质量鉴别是每位学生根据要求设计实验，并自己完成实验后得出鉴定结果。

八、作业：

- 1、描绘臂尾轮虫和卤虫无节幼体的形态特征图；
- 2、轮虫的培养结果；
- 3、卤虫卵质量鉴别报告。

第四讲：4 学时

实验二 鱼类的食料分析

一、教学目的：学习鱼类食料分析的一般方法。

二、教学重点：掌握鱼类食料分析的方法。

三、教学难点：鱼类消化道中各食料种类的鉴别。

四、教学方法：

- 1、预习法：学生在上课前需预习本次所做实验的内容和步骤，并写出实验预习报告；
- 2、讲解法：将本次的实验内容、步骤和注意事项进行讲解说明；
- 3、疑问法：讲解后学生开始自己动手操作实验，如有疑问可举手请教师指导。

五、教学用具：

稜鲮 *Mugilearinatus* (每人 1 尾)，解剖刀和剪刀 (自带)，解剖盘 30 个，直尺 15 把，蒸馏水，滴瓶，吸管，盖玻片，载玻片等。

六、教学过程：(提纲)

实验二 鱼类的食料分析

(一) 摄食等级：①测体长；②测消化道长；③鉴别摄食等级；

(二) 食物种类出现频率。

七、实验小结：

- 1、实验以 1 人一组仪器，各人独立完成实验操作，锻炼每位学生的操作能力；
- 2、实验安排上下有连贯性。如实验一做不好将影响本次实验的观察。

八、作业：

- 1、完成下列附表的内容：

附表 1 鱼的摄食强度

鱼名	体长 (cm)	肠长 (cm)	肠与体长比	摄食等级

附表 2 鱼类的食料组成

体长 (厘米)	体重 (克)	性别	采集地	日期
食料种类	出现视野数	鉴定总视野数	出现频率 (%)	
圆筛藻				

- 2、实验报告。

第五讲：6学时 实验三 水产品中重金属残留的测定

随着科学技术的发展和人民生活水平的提高，人们对食品卫生、质量、营养的要求越来越高，而且近年来还发现许多微量元素与人体健康有着密切的关系，因此对动植物、食品等样品中痕量、微量、半微量元素的测定是非常重要的，原子吸收光谱技术为这些元素的测定提供了一个快速、灵敏、准确、简便的分析手段，正在逐步取代繁琐的化学分析法，而且应用越来越广泛。

本次实验要测定的是牡蛎中的镉含量，镉既是一种用途广泛的金属，又是一种十分有毒的元素。在所有的金属元素中，镉是对人体健康威胁最大的有害元素之一。镉不是人体必需的元素。新生儿的体内几乎不含有镉。人体中的镉几乎全部是出生后从环境中蓄积的。在遭受污染的环境中，随着年龄的增长，人体内镉的摄入量越来越多，最终使人中毒。镉对人体组织和器官的危害是多方面的，主要是对肾脏、肝脏的危害。此外，镉还导致肺水肿、高血压、贫血、骨软化症和嗅觉减退甚至丧失等病症。

本实验的重点是学习水产品试样的前处理技术。

在这类样品的原子吸收分析中，由于样品的成分极其复杂，要准确测定其中某种元素的含量，必须经过一定的处理，去除干扰成分，保留待分析成分，因此样品的处理十分关键。在原子吸收分析中样品的消解一般采用高温灰化法、湿法消化法、高温消解罐法等。高温灰化法是将样品置于坩埚中，在高温炉中灼烧除去有机质，然后再稀酸溶解残渣，这种方法不适宜易挥发元素的测定。湿法消化法是采用硝酸、高氯酸、双氧水等氧化剂消解样品中的有机质，常用的酸体系有 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ (4: 1)、 $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ 。此方法的优点是被测元素在消化时损失小，适用面广。高温消解罐法是消解样品的新方法，由于样品是在氧化剂和高温、高压作用下消化，因此样品用量少，消解样品快速、彻底，目前在动植物、食品等样品分析中被广泛使用。

根据我们实验室的条件，本实验选用了高温灰化法做牡蛎样品的前处理方法，通过预试验摸索的具体做法如下：

称取 0.1g 牡蛎肉于瓷坩埚中，先小火在电热板上炭化至无烟，移入马弗炉 500℃灰化 6h，冷却。用滴管加硝酸 (0.5mol/L) 将灰分溶解，再用滴管将牡蛎肉的消化液洗入 25ml 容量瓶中，用水少量多次洗涤瓷坩埚，洗液合并于容量瓶中并定容至刻度，混匀备用；同时作试剂空白。

原子吸收光谱仪的参数是：

波长：228.8nm；通带：0.5nm；

普通石墨管

干燥温度：100℃，30s；灰化温度：300℃，20s；原子化温度：900℃，3s；净化温度：2500℃，3s；进样体积：10μl

标准曲线：0.50、1.0、1.50、2.0μg/L

$Y=0.15395x+0.0061$ 拟合：0.9994

$$X = \frac{(A_1 - A_2) \times V \times 1000}{m \times 1000}$$
$$= \frac{(A_1 - A_2) \times 25 \times 1000}{0.1 \times 1000}$$

第六讲：6 学时 实验四 水产品中农药残留的测定

我国农业中过去广泛使用六六六、滴滴涕（DDT）长达 30 余年。由于这类杀虫剂化学性质稳定，在环境中不容易降解，也易于在生物体内蓄积，因而一直受到广泛关注。发达国家在 20 世纪 70 年代相继限制和禁止使用。我国也于 1983 年停止生产和使用六六六和滴滴涕。由于这类农药在环境中的稳定特性，我国在环境和食物中的残留仍将持续较长时间。

六六六是一种有机氯杀虫剂。因为它的分子中含有六个碳、六个氢和六个氯原子而得名。它的学名应该叫六氯环己烷(HCH)或六氯化苯(BHC)。六六六看起来结构简单，实际上有 4 种相同成分的异构体。其中只有两种异构体(γ -六六六)具有强烈杀虫作用，纯的两种异构体称为林丹。

有机氯农药的慢性毒性主要表现在肝、肾和神经系统等。

本次实验是要测定牡蛎中六六六的四种异构体的含量。

本实验的重点是学习水产品试样的前处理技术。

一、样品的提取

1. 决定提取效果的因素 提取就是将残留在试样中的农药，采用适当的有机溶剂和方法，从试样中分离出来，以供净化后进行测定。提取效果的好坏，首先是溶剂的选择，选择溶剂时，既要注意溶剂本身的性质，又要考虑试样的状况、农药特性以及农药在试样中的代谢情况等。

(1) 提取溶剂 目前，应用广泛的溶剂有丙酮、乙腈、正己烷、石油醚、苯二氯甲烷等。丙酮能很好地溶解大多数农药，在提取过程中，过滤和浓缩也较容易，使用较方便。我国对有机氯农药提取大都采用丙酮-石油醚混合溶剂。

(2) 农药的特性 提取溶剂的选择，除了了解溶剂的极性，还有了解农药的极性和溶解性。根据相似相溶原理，极性溶剂溶解极性物质，非极性溶剂溶解非极性物质。所以常采用石油醚、正己烷一类的溶剂或混合溶剂如二氯甲烷、己烷，二乙基醚-己烷，提取六六六、滴滴涕等残留农药。

(3) 农药代谢产物 对某些农药的提取，除了解本身的特性外，还需要了解它们各种同系物和代谢产物，其中有些与原农药性质相似或差异很大，有些是毒性大的。

(4) 试样 提取农药时，还必须考虑试样的特点和状态。对含水量大的试样常加无水硫酸钠进行脱水。残留农药的分析，往往包括它们它们的异构体和代谢产物，然而它们之间的极性有时差异较大，如六六六的异构体中的 γ -六六六就比其他异构体的极性大，它在非极性的石油醚中溶解度低，因此在石油醚中适当地加入极性稍大点的溶剂（如丙酮）组成混合溶剂作提取溶剂，效果就很好。

2. 提取方法 对残留有机氯的提取，一般常采用索氏提取法、振荡法、超声波法、捣碎法等。

(1) 索氏提取法 较简便，提取效率高，但耗时长。采用此方法时，应考虑被测农药的热稳定性。采用该方法还要注意纸筒放置的位置，放置高度不要超过提取器的蒸气入口处，以免气流受阻影响回流，又不要低于回流的弯曲处，以免回流时带出样品。同时，还要注意滤纸筒或滤纸中不允许含有待测残留农药，故在使用前需用极性处理，消除可能存在的干扰。

(2) 振荡法 也是残留农药分析常用的一种提取方法，方法简便快速，振荡时间一般为 10—30min，对于残留的多种农药（包括易挥发、热不稳定者）都可采用，常在振荡容器加几颗玻璃珠用以提高提取效率。一般 1—2 次即可完成提取，多次振荡提取效率更高。要

注意的是：在开始振荡前，在提取溶剂与试样装入容器后，先用手工振摇数次，开塞放气，以免振荡时大量气体产生而发生冲盖、样液损失等。

(3) 超声波法 是利用超声波在液体中振动时产生的一种空化作用而有利于溶剂的提取。当发生空化现象时，液体中空气被赶出，而形成真空，这将产生巨大的声压，对液体作用的结果，使粒子运动速度大大加快，利用这一能量，易使溶剂将土壤等物质中残留的农药提取出来。要注意的是，对含水量少的试样要先加入一定水到试样中，同时要注意选择适当型号的发生器、提取时间、试样与溶剂的比例、试样与水的关系等，都需事先试验、选优，以获取最佳效果。该方法简便、快速、适用面广，便于多个样品的同时提取，是一种有前途的方法。

(4) 捣碎法 是将试样捣碎，然后与有机溶剂一起采用高速匀浆提取。方法不受某些农药温度的限制，适用面广，适用于各种试样中各种残留农药的情况。该方法简便快速，每次提取时间 3—5min。要注意的是：试样在捣碎时，如发生乳化现象或形成胶状物，就难以过滤，这时需要进行离心处理。

二、样品的净化

在分析操作时，所得到的试样提取液中往往除残留农药外，还有色素、油脂或其他干扰物质，必须经过分离除去这些干扰杂质后才可进行测定，这一操作过程叫做“净化”。

待测试样中农药品种不同，往往采用不同的测定方法。目前对残留有机氯农药多用电子捕获检测器的气相色谱法（GC-ECD）。色谱分析时，必须防止杂质对电子捕获检测器的污染，净化要求十分严格。净化的方法有多种，一般采用柱层析法、化学处理法、液-液分配法、扫集共蒸馏法以及低温冷冻法和前置柱色谱法等。

1. 弗罗里土硅镁吸附剂柱层析法 是吸附剂柱层析法中重要的一种，在目前有机氯、有机磷分析净化中广泛采用。弗罗里土最适于对于脂肪量高的试样的净化。用一定含量二氯甲烷的己烷淋洗，对六六六、DDT 多种异构体、多氯联苯等多种有机氯农药能进行定量回收。

2. 凝胶渗透柱层析法 是一种有效的柱层析净化方法 GPC 可除去高分子量的污染物。

3. 酸净化法 中国标准方法中，对水或土壤等样品中有机氯农药（六六六、DDT）提取液的净化，采用的是浓硫酸净化法。方法是向石油醚提取液中缓缓加入约 1/10 体积的浓硫酸（开始轻轻振摇，不断放气以免发热过猛发生爆炸），然后猛烈振摇 1min，静置分层去硫酸层。按上述步骤反复数次，至硫酸层无色，用以除去某些脂类、色素等杂质。

三、分析测试方法

1. 目前国内外几种常用的标准或法定分析方法 环境样品（水样、土壤样）中残留的有机氯农药，经溶剂提取、净化、浓缩等前处理步骤后的萃取待测溶液，目前多采用 GC-ECD 分析。

2. 有机氯农药气相色谱分析中几个需要注意的问题 环境（水或土壤）中残留有机氯农药气相色谱法分析中，几个有关的问题需要注意，即检测器、方法的干扰、定性、定量及确证等，分述如下。

(1) 检测器 气相色谱法分析残留有机氯农药，一般采用 ECD 检测器，该检测器对有机氯农药具有很高的灵敏度和选择性。

(2) 干扰问题 因 ECD 不仅对有机氯农药，而且对其他卤化物，含硫、含磷化合物以及过氧化物、硝基化合物、多环芳烃、共轭羰基化合物等电负性物质，皆具有很高的灵敏度和选择性，所以在分析中需要注意这些杂质带来的干扰。

3. 方法的定性定量和确证

(1) 定性分析 采用气相色谱法进行定性分析，通常有三种方式：一是用已知物质进行校对的方法；二是相对保留时间法；三是多柱系统鉴别方法。

(2) 定量分析 主要依据是色谱峰,测定色谱峰的面积(或峰高)是色谱法定量的基础,峰面积的测算目前多用微处理机计算,仪器可自动地将面积积分算出,并把所得结果打印和储存起来。测定农药残留的气相色谱法中,最常用的计算方法有外标法和内标法。外标法也称已知样校正法。该方法又分为外标单点计算法和标准曲线法,方法操作简单、计算方便,其准确性主要取决于进样量的重复性和操作条件的稳定程度。内标法是将一定量的纯物质作为内标物加入试样中,然后进行色谱分析,测定内标物和几种被测组分的峰高或峰面积和相对响应值,即可求出几个组分在试样中的含量。

(3) 确证试验 在气相色谱法分析残留农药的过程中,往往会发现含有与被测农药性质类似的干扰物质存在,需要进行确证试验,以便做出正确的判断;当农药残留有可能超过最高农药限量的规定时,也需要进行确证试验。确证试验的方法很多,有更换色谱柱法、选用不同选择性检测法、薄层色谱法、高效液相色谱法、衍生化法、毛细管色谱柱以及质谱法、光谱测量法等。在确证有机氯农药残留时,可根据具体情况,对这几种方法选择应用。

最好的确证方法是色谱-质谱联用方法,由色谱先分离残留待测有机氯农药,再进入质谱仪进行分析确证。

根据我们实验室的条件,本试验超声提取法,用硫酸净化对牡蛎样品进行前处理,通过预试验摸索的具体做法如下:

取牡蛎肉 10.0g 加丙酮 20ml,超声处理 30min,放冷,再加氯化钠 6g 及石油醚 10ml,超声处理 15min,静止使分层,将有机相移入装有 15.0 无水硫酸钠的具塞锥形瓶中,放置 4h。精密量取 3ml 置 7ml 具塞离心管中,加入浓硫酸 1ml,振摇 1min,离心(3000r/min) 10min。精密量取上清液 0.5ml,空气自然挥发干,加石油醚 1ml,溶液供气相色谱分析。

色谱条件

色谱仪: Agilent 6890N

仪器控制及数据采集: Agilent 化学工作站

进样口: 分流/不分流进样口

进样口温度: 230°C

进样方式: 分流进样

分流比: 50: 1

进样体积: 0.2μl

色谱柱: HP-5 30m×0.32 mm×0.25μm

载气: 氮气, 1.0ml/min

柱箱: 100°C, 10°C/min 升至 200°C, 8°C/min 升至 250°C, 保持 4min

检测器: 微池电子捕获检测器 (micro-ECD), 300°C

尾吹气: 氮气, 60mL/min

用保留时间定性, 峰面积定量

$$\begin{aligned} X_i &= \frac{h_i \times c \times V}{h_{is} \times m} \\ &= \frac{h_i \times 0.004 \times 1}{h_{is} \times 10} \end{aligned}$$

起 始								
24 h								
48 h								
72 h								
96 h								

七、实验实际过程：组内讨论方案 20'，教师参与协助。

- 1、汇总确定实验方案及注意事项：勿污染、计数准确、培养条件一致。
 - 2、强调同学间的协作性、微量加样枪的使用等。
 - 3、藻的初始密度：扁藻用血球计数板计，塔玛亚历山大藻用浮游植物计数框；根据情况，确定采用 1000cells/ml 的实验密度，计算实验需要的藻体积；
 - 4、贴标签、配实验溶液、加入藻；（在此同学考虑了两种方案，一为固定实验水体为 300ml，算出要加入的藻量，并加入 F/2 母液；一为按 420ml 水体为终体积来加藻及 F/2 母液。我们同意同学自行决定采用哪种方案）；
 - 5、每隔 24h 进行藻类摇匀计数，实验到 96h 为止。
- 记录观察结果及实验数据（实验中出现的任何现象、异常情况都应记录），整理、分析结果（各组数据误差分析等）；
- 6、撰写实验报告：实验结果绘图并说明，分析结果，解释异常现象等。

八、存在问题：

- 1、在设计计算需用藻量时存在两中结果，学生不知取舍；
- 2、误操作等，如加错溶液、藻等；
- 3、实验需用瓶子太多，较难准备，因此，仅做 ATDH03 与亚心形扁藻的竞争；
- 4、扁藻及 ATDH03 均为 1000cells/ml，前者的生长一直不明显（外观），后者尚可。

第八讲：4 学时 实验六 盐度对海洋动物存活率的影响

一、实验目的

1. 以不同盐度梯度和变化速率进行实验，了解广盐性和狭盐性海洋动物对盐度的适应能力。
2. 掌握盐度与比重的相互关系，学会海水比重、盐度测定方法。

二、原理

盐度是海水总含盐量的度量单位，海水盐度最低可小于 0.5（河口），最高可超过 40（红海）。受渗透压调节能力的限制，海洋生物对海水盐度的变化有一适应范围，根据适应范围的大小，可分为狭盐性生物和广盐性生物二类。狭盐性生物对盐度变化很敏感，只能生活在盐度稳定的环境中，广盐性生物对海水盐度的变化有很大的适应性，能忍受海水盐度的剧烈变化。不同种类海洋生物对盐度变化适应能力的差异由遗传所决定，不同种类、同一种类不同发育阶段和雌雄个体适应能力也不同。另外，水温、溶解氧等其他环境因子是否处于适宜范围也影响海洋生物对盐度变化的适应能力。

三、仪器与设备

1. 折射盐度计
2. 比重计
3. 充气机
4. 培养缸等玻璃仪器
5. 托盘扭力天平

四、药品与试剂：

NaCl、MgSO₄、NaHCO₃ 等

五、实验材料：

鱼、对虾、贝类或卤虫等根据情况选择

六、实验步骤

介绍如何用比重计测量换算出海水盐度。介绍其他盐度测定的方法及仪器

1. 以 1000ml 烧杯为培养容器，以取自培养动物栖息水域的天然过滤海水为母液，用蒸馏水和 NaCl 等试剂配制成盐度范围 0~40、盐度梯度为 5 的培养液，同时使水温等其他环境因子保持在培养动物的适宜范围内。

2. 每只烧杯中分别放入对虾仔虾幼体约 10 只，试验期间注意观察各培养瓶中对虾幼体的活动和存活情况，并于 **24h** 后计算各试验组的死亡率。为着实验容器等原因，采用较宽的盐度间隔。

盐度 (‰)	0	10	20	30	40
死亡率 (%)					

3. 以耐受极限为最终培养盐度，设置不同的盐度变化速率，分别以每小时 2‰和 5‰的变化梯度，从天然海水的盐度增加（减少）至耐受极限，观察不同盐度变化速率下对虾幼体的活动和存活状况。

七、实验实际过程：

- 1、盐度取：0、10、15、20、30、40‰，因为所用的南美白对虾所需盐度偏低，来时盐度约十几。
- 2、捞虾苗时时间偏长；
- 3、在这个季节，虾苗来源较少；温度偏低；今后考虑改为卤虫等易得材料；
- 4、用比重计测密度，并由海洋学表查出相应盐度。