

虾池两种常用消毒剂对微绿球藻生长与代谢的影响*

黄翔鹄 李长玲 刘楚吾 郭丹瑛 陈超

(湛江海洋大学水产学院 524025)

关键词 有效碘,有效氯,微绿球藻(*Nannochloris oculata*)

使用化学药物防治对虾疾病会打破生物间互相依赖、相互制约的生态平衡关系,同时又抑制有益藻类的繁殖;药物的不断积累对水环境造成污染。养殖过程中大多数对虾疾病的发生与水环境因子有密切关系。生态防病的应用是对虾养殖可持续发展的前提,养殖生态系统应该具有合理的生物组成和优化环境的功能,其生态系稳定性在很大程度上取决于水域的微小生物群落结构。通过生物技术引入和改变养殖水域中微小生物群落的结构与功能的生态调控防病技术,是对虾生态防病的主要途径^[1]。微绿球藻(*Nannochloris oculata*)是对虾高位池广泛分布、种群稳定、适应能力强的一种常见优势种,能改善水质提高对虾的抗病力,属绿藻门(Chlorophyta)的四胞藻目(Tetrasporales)。因此,本文对虾塘中的常用含碘消毒剂和含氯消毒剂对微绿球藻生物学特性的影响进行研究,以期今后对虾养殖水域微藻生态调控防病技术的研究和应用提供资料。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验微藻来源 实验用微绿球藻于2000年7月从海南三亚湛泰对虾养殖场分离,养殖场虾池均系高位池,微藻经驯化培养在实验室中备用。

1.1.2 实验海水 实验用海水取自湛江市东风码头海区,经沉淀砂滤,煮沸消毒,静置1 d后使用。

1.1.3 实验用消毒剂 含碘消毒剂用伏碘,其主要成分是聚乙烯吡咯烷酮碘 Povidone Iodine(PVP-I);含氯消毒剂用Ca(ClO)₂。

1.2 方法

1.2.1 培养方法和条件 实验藻种先于试验培养条件下培养2 d后供接种用,藻液与培养液按1:1的比例加入1 000 ml锥形瓶中,培养体积600 ml。培养液成分为湛水107-13配方^[2],室内培养采

用日光灯作为光源,光照强度约为2 000 lx,光照时间为24 h,温度控制在25±2℃,培养用的海水比重为1.019±0.001,pH值8.0~8.2。每天定时摇动培养瓶4次。

1.2.2 消毒剂浓度设置 在预备实验的基础上分别设置10个浓度梯度进行试验。含碘消毒剂设置以有效碘浓度为0.2,0.4,0.6,0.8,1.0,1.2,1.4,1.6,1.8和2.0 mg/L;含氯消毒剂设置以有效氯浓度为0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0,3.5,4.0,4.5和5.0 mg/L。每种药品梯度均设置2个重复组,并以同样比例接种微绿球藻,不加药液的培养液设为对照组。

1.3 测定方法

1.3.1 藻细胞密度的测定 每天定时取样一次,用723型分光光度计测定藻液光密度值(OD_{660 nm}),以不加藻种的含药培养液为空白。

1.3.2 干重的测定 实验结束时,通过离心收集微藻于培养皿中,经电热鼓风恒温干燥箱120℃恒温45 min烘干,用电子天平称出藻体的干重。

1.3.3 叶绿素a含量的测定 叶绿素a含量测定方法按陈明耀^[2]: 叶绿素a(mg/L) = 11.64 OD_{663 nm} - 2.16 OD_{645 nm} + 0.10 OD_{630 nm}。

1.3.4 光合作用和呼吸作用的测定 用氧电极法^[3]测定光合作用和呼吸作用强度。

1.3.5 数据处理 相对生长常数 $K = (\lg N_t - \lg N_0) / T^{[2]}$, N_0 为开始时藻液浓度, N_t 为结束时藻液浓度, T 为培养时间,单位为d;平均倍增时间 $Q(d) = 0.301 / K$ 。

* 广东省科技攻关项目C20823号;广东粤海饲料公司科技资金资助。

第一作者:黄翔鹄,出生于1962年,讲师,从事养殖水域微藻生态调控防病的生态学理论研究。E-mail ybcl@163.net

收稿日期:2002-01-07;修回日期:2002-04-18

表 1 含碘消毒剂对微绿球藻生长的影响

Tab.1 Effect of the chemical disinfectant of contenting I on the growth of *Nannochloris oculata*

有效碘浓度(mg/ L)	OD 值					K	G (d)
	0	24 h	48 h	72 h	96 h		
对照组	0.121	0.177	0.215	0.246	0.302	0.079	3.79
0.2	0.126	0.188	0.233	0.268	0.311	0.078	3.84
0.4	0.135	0.182	0.219	0.259	0.324	0.076	3.96
0.6	0.131	0.182	0.221	0.253	0.312	0.075	3.99
0.8	0.123	0.174	0.213	0.243	0.287	0.074	4.09
1.0	0.130	0.177	0.224	0.250	0.302	0.073	4.11
1.2	0.135	0.175	0.222	0.254	0.303	0.070	4.31
1.4	0.135	0.174	0.206	0.240	0.303	0.070	4.31
1.6	0.127	0.167	0.198	0.229	0.283	0.070	4.31
1.8	0.131	0.173	0.206	0.250	0.291	0.069	4.34
2.0	0.129	0.158	0.197	0.233	0.285	0.069	4.37

注: K 值、G 值为 96 h 的计算结果。

2 结果

2.1 含碘消毒剂对微绿球藻生长的影响

有效碘浓度为 1.8 mg/ L 时, 相对于对照组 K 值下降了 12.66%, G 值增加了 14.51%, 经方差分析,

$F = 25 > F_{0.05}(1, 2) = 18.51$, 显著抑制微绿球藻的生长(表 1)。

2.2 含氯消毒剂对微绿球藻生长的影响

有效氯浓度为 2.5 mg/ L 时, K 值相对对照组降

表 2 含氯消毒剂对微绿球藻生长的影响

Tab.2 Effect of the chemical disinfectant of contenting Cl on the growth of *Nannochloris oculata*

有效氯浓度(mg/ L)	OD 值					K	G (d)
	0	24 h	48 h	72 h	96 h		
对照组	0.142	0.182	0.224	0.257	0.284	0.060	4.50
0.5	0.142	0.187	0.231	0.272	0.321	0.071	4.25
1.0	0.142	0.166	0.204	0.236	0.292	0.063	4.81
1.5	0.140	0.175	0.224	0.231	0.270	0.057	5.28
2.0	0.141	0.165	0.205	0.240	0.276	0.055	5.43
2.5	0.141	0.160	0.180	0.214	0.249	0.049	6.09
3.0	0.141	0.163	0.186	0.212	0.249	0.049	6.09
3.5	0.136	0.153	0.173	0.195	0.228	0.045	6.71
4.0	0.134	0.130	0.142	0.158	0.191	0.031	9.78
4.5	0.136	0.093	0.076	0.053	0.059	-	-
5.0	0.132	0.087	0.064	0.036	0.030	-	-

注: K 值、G 值为 96 h 的计算结果。

低了 18.33%, G 值延长了 35.33%, 经方差分析, $F = 30.25 > F_{0.05}(1, 2) = 18.51$, 对微绿球藻生长有显著抑制, 药物浓度越高, 毒性越强。有效氯浓度 ≥ 4.5 mg/ L 时, 从培养第一天开始, 藻类出现死亡, 有较大的毒性, 无法计算 K 值和 G 值。有效氯浓度为 0.5 mg/ L 时对微绿球藻生长有促进作用(表 2)。

2.3 含碘消毒剂对微绿球藻叶绿素 a 含量和干重的影响

方差分析, 有效碘浓度为 0.2 mg/ L 时, $F = 32 > F_{0.05}(1, 2) = 18.51$, 微绿球藻叶绿素 a 量显著减少; 有效碘浓度为 1.2 mg/ L 时, $F = 99.7 > F_{0.01}(1, 2) = 98.50$, 叶绿素 a 量相对对照组下降了 24.08%, 有极

显著的抑制效应, 但对藻体干重影响不大(图 1)。

2.4 含氯消毒剂对微绿球藻叶绿素 a 含量和干重的影响

有效氯浓度为 2.5 mg/ L 时, 叶绿素 a 含量相对对照组分别降低了 11.069%, 方差分析 $F = 128 > F_{0.01}(1, 2) = 98.50$, 对微绿球藻有极显著毒性, 随有效氯浓度增加, 叶绿素 a 含量有继续下降的趋势, 对藻体干重影响不大。有效氯浓度为 0.5 mg/ L 时, 其叶绿素 a 含量和藻体干重有所增加(图 2)。

2.5 含碘消毒剂对微绿球藻代谢的影响

有效碘浓度在 0.2~1.0 mg/ L 范围内, 微绿球藻光合作用与呼吸作用速率下降, 在 0.2 mg/ L 时, 其光

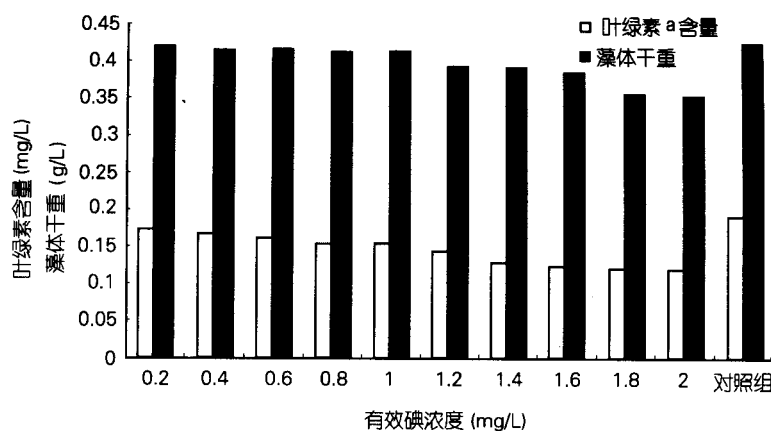


图 1 含碘消毒剂对微绿球藻叶绿素 a 含量和干重的影响

Fig.1 Effect of the chemical disinfectant containing I on the Chlorophylla content and dry weight of *Nannochloris oculata*

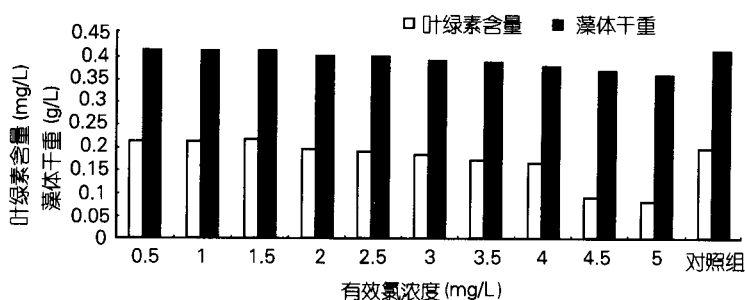


图 2 含氯消毒剂对微绿球藻叶绿素 a 含量和干重的影响

Fig.2 Effect of the chemical disinfectant containing Cl on the Chlorophylla content and dry weight of *Nannochloris oculata*

表 3 含碘消毒剂对微绿球藻光合作用和呼吸作用的影响

Tab.3 Effect of the chemical disinfectant of contenting I on the metabolize of *Nannochloris oculata*

有效碘浓度 (mg/L)	光合作用强度 ($\times 10^{-5} \text{ nmol} / (\text{个} \cdot \text{h})$)	与对照组相比 (%)	呼吸作用强度 ($\times 10^{-5} \text{ nmol} / (\text{个} \cdot \text{h})$)	与对照组相比 (%)
对照组	12.08	0	4.75	- 0
0.2	10.37	- 14.16	4.27	- 10.11
0.4	10.21	- 15.48	4.34	- 8.63
0.6	10.09	- 16.47	4.17	- 12.21
0.8	10.08	- 16.56	4.15	- 12.63
1.0	10.08	- 16.56	4.14	- 12.84
1.2	9.98	- 17.38	4.06	- 14.53
1.4	9.83	- 18.63	3.99	- 16.00
1.6	9.68	- 19.87	3.53	- 25.69
1.8	9.61	- 20.45	3.53	- 25.69
2.0	7.33	- 39.32	3.01	- 36.63

注:培养 24 h 测定。

合作用和呼吸作用速率相对于对照组,分别下降了 14.16%和 10.11%(表 3)。

2.6 含氯消毒剂对微绿球藻代谢的影响

有效氯浓度在 2.5 mg/L 时,微绿球藻的光合作

表 4 含氯消毒剂对微绿球藻光合作用和呼吸作用的影响

Tab.4 Effect of the chemical disinfectant of containing Cl on the metabolize of *Nannochloris oculata*

有效氯浓度 (mg/L)	光合作用强度 ($\times 10^{-5}$ nmol/(个·h))	与对照组相比 (%)	呼吸作用强度 ($\times 10^{-5}$ nmol/(个·h))	与对照组相比 (%)
对照组	12.07	0	4.73	0
0.5	12.62	+4.56	4.74	+0.21
1.0	12.05	-0.17	4.74	+0.21
1.5	11.95	-0.99	4.24	-10.36
2.0	11.12	-7.87	3.82	-19.24
2.5	10.63	-11.93	3.76	-20.38
3.0	10.30	-14.66	3.61	-23.68
3.5	10.04	-16.82	3.49	-26.22
4.0	8.26	-31.57	3.31	-30.02
4.5	6.60	-45.32	2.20	-53.49
5.0	2.93	-75.73	1.58	-66.60

注:培养 24 h 测定

用和呼吸作用速率下降,相对对照组分别降低了 11.93%和 20.38%,并随有效氯浓度增加,其代谢强度有下降趋势。有效氯浓度在 0.5 mg/L 时,微绿球藻代谢强度有所加强(表 4)。

3 讨论

3.1 两种消毒剂的特性

PVP-I 是碘和聚乙烯吡咯烷酮剂络合物,是一种缓放性较好的高分子药物,比较稳定,药效持续时间较长,在接触有机物后释放出碘原子,且具有较强的穿透力,使病毒失去活性,是一种防治对虾病毒病较理想的药物。含氯消毒剂包括氯化型和非氯化型,氯化剂型又分为无机氯和有机氯剂,无机氯主要包括液氯、次氯酸钠、漂白粉和漂白精等;氯化型消毒剂溶于水后产生次氯酸及次氯酸离子,具有较强的杀菌能力;无机氯消毒剂由于价格便宜、杀菌广谱、购买和使用方便等优点,在水产养殖场中得到广泛应用。两种消毒剂在杀菌的同时,对水体的微藻种群具一定的毒性,对养殖水域微藻生态系统平衡有直接影响。因此,研究微藻生态调控对虾防病技术同时,必需考虑虾塘中常用消毒剂对微藻种群生长影响。

3.2 两种消毒剂对微藻的毒性

在较高浓度下,两种消毒剂对微绿球藻种群增长具有一定的抑制作用。有效氯浓度 ≥ 2.5 mg/L 时,对微绿球藻生长、叶绿素 a 含量、光合作用和呼吸作用都有较强的抑制作用。并随药物浓度增加,其毒性加强。有效氯浓度 ≥ 4.5 mg/L 时,可引起藻类大量死亡(表 2),有效氯浓度在 0.5 mg/L 时,有轻微的促进作用,认为毒物在低浓度下对微藻生长具有促进作用,称为“毒性兴奋效应”^[8]。有效碘浓度 ≥ 0.2 mg/L 时,叶绿素 a 含量、光合作用和呼吸作用有显著抑制作

用,有效碘浓度 ≥ 1.8 mg/L 时,对生长有显著抑制。两种消毒剂对藻体干重影响不大。

3.3 对虾池微生态调控与防病

对虾疾病的发生大多是由于生态系统的破坏,导致生态失衡的综合因素所致^[4];养殖过程中通过调节好生态系统平衡,保持良好的水质,可增加对虾抗病力^[5];对虾养成的主要技术之一,就是调节好池塘生态系统平衡^[6,7];浮游植物对于维持池塘生态系统的正常功能,稳定池塘环境是不可缺少的。因此,通过引入优良微藻来优化浮游植物群落的结构与功能,保持生态系的动态平衡和良好的养殖环境,是对虾高位池微藻生态调控防病的一个重要途径。作者认为,有效碘浓度 < 0.2 mg/L,有效氯浓度 < 2.5 mg/L 进行治病,不会破坏微藻生态系统而引起虾病的暴发。

参考文献

- 曾呈奎,相建海.海洋生物技术.济南:山东科学技术出版社,1998.327~340
- 陈明耀.生物饵料培养.北京:农业出版社,1995.69~75
- 张志良主编.植物生理学实验指导.北京:高等教育出版社,1990.65~67,184~185
- 丁美丽,林林,李光友等.有机污染对中国对虾体内外环境影响的研究,海洋与湖沼,1997,28(1):7~12
- 孙舰军,丁美丽.氨氮对中国对虾抗病力的影响,海洋与湖沼,1999,30(3):267~272
- 门胁秀策,田中启阳.透明度からみた养殖クルマエビの成長,水产増殖,1993,41(1):61~65
- 田中启阳.クルマエビ养殖における水作りの科学,养殖,1995,32(12):76~78
- Stebbing A. R. D.. Hormesis the stimulation of growth by low levels of inhibitors, Sci. Tot. Envir.,1982,22:213~234

EFFECTS OF TWO CHEMICAL DISINFECTANTS ON THE GROWTH AND METABOLISM OF *Nannochloris oculata*

HUANG Xiang-hu LI Chang-ling LIU Chu-wu GUO Dai-ying CHEN Chao
(Fisheries College , Zhanjiang Ocean University , 524025)

Received : Jan . , 7 , 2002

Key Words : Availability I , Availability Cl , *Nannochloris oculata*

Abstract

This paper deals with two chemical disinfectants on the growth and metabolism of *Nannochloris oculata* . The results show that at both the concentrations of availability Cl ≥ 2.5 mg/ L and availability I ≥ 0.2 mg/ L and with the concentration of the chemical disinfectant , the growth rate , the Chlorophylla content , photosynthesis and respiration were reduced markedly . The higher the concentration is , the greater the toxicity will become . At the concentrations of availability Cl ≥ 4.5 mg/ L , *Nannochloris oculata* degrades markedly . *Nannochloris oculata* appears “ toxicity excitement result ” in the low levels Cl .

(本文编辑 : 刘珊珊)