

特丁基三嗪对两种赤潮藻去除的实验研究

刘洁生*, 张珩, 杨维东, 高洁, 柯琼

(暨南大学生物工程学系, 广东广州 510632)

摘要: 研究了特丁基三嗪(*tertbutyl triazine*)对塔玛亚历山大藻和球形棕囊藻两种赤潮生物的杀灭和控制作用。结果表明, 特丁基三嗪能有效地控制和杀灭塔玛亚历山大藻和球形棕囊藻, 其中 96 h 杀灭塔玛亚历山大藻的有效浓度为 0.2 mg L^{-1} , 杀灭球形棕囊藻的有效浓度为 0.3 mg L^{-1} 。特丁基三嗪具有高效、作用时效长的特点, 可能是一种比较理想的赤潮藻去除剂。

关键词: 藻类; 灭藻剂; 特丁基三嗪; 塔玛亚历山大藻; 球形棕囊藻; 赤潮

中图分类号: Q948.885.3

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2004)05-0440-04

Experimental Study on Algaecide Tertbutyl Triazine for Removing Red Tide

LIU Jie-sheng*, ZHANG Heng, YANG Wei-dong, GAO Jie, KE Qiong

(Department of Biotechnology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: Herbicide tertbutyl triazine was used for removal and control of red tide caused by *Phaeocystis globosa* and *Alexandrium tamarensense* under laboratory condition. The results showed that the effective concentration of tertbutyl triazine for killing *P. globosa* and *A. tamarensense* was 0.3 mg L^{-1} and 0.2 mg L^{-1} , respectively, for 96 hours. Tertbutyl triazine might be a good algaecide with high efficiency and durative action.

Key words: Algae; Algaecide; Tertbutyl triazine; *Alexandrium tamarensense*; *Phaeocystis globosa*; Red tide

塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarensense*)是一种能产生麻痹性贝毒(paralytic shellfish poisoning, PSP)的有害赤潮藻种, 这类产毒藻在世界各地的危害日益严重^[1,2]。近年来, 我国这种有毒赤潮藻发生的频率和规模也不断增加^[3,4], 严重威胁着海产养殖业和人民健康。球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)属于定鞭金藻, 是一种广温广盐性的藻类, 从极地到温带地区的海洋中都有分布, 是我国新记录的赤潮藻种。1997年起在我国南海海域接连发生多起大规模的 *Phaeocystis* 赤潮^[5,6], 给当地水产养殖业造成了重大损失。棕囊藻赤潮已成为我国主要的有害赤潮之一。因此, 探讨和研究塔玛亚历山大藻和球形棕囊藻赤潮的治理方法具有非常重要的意义。

目前, 已报道了多种治理赤潮的方法, 如硫酸铜法、臭氧法、黏土法以及生物防治法等^[7]。这些方法存在着毒性强、药剂用量大、对环境生态可能造成二次污染或者难操作等问题, 因而实际应用很少。寻找低毒、高效、无害的除藻剂和易操作的赤潮防治方法迫在眉睫。化学除藻剂因其除藻快, 效果明显仍然是赤潮治理研究的热点和实际应用的首选^[7]。

三嗪类物质作为一种除草剂, 广泛应用于玉米、小麦、高粱等农作物田中和森林、果树杂草的治理, 仅美国每年消耗三嗪类物质就达数万吨。三嗪类除草剂具有广谱性, 适用农作物多、选择性强、低毒等特点, 是目前除草剂中的重要类型^[8,9]。但应用到赤潮治理, 至今还未见报道。本文探讨特丁基三嗪对塔玛

收稿日期: 2003-09-27 接受日期: 2004-02-11

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目“973”(2001CB409710); 广东省自然科学基金重点项目(021168); 广州市科技重点项目(2002J1-C0011)资助

* 通讯作者 Corresponding author

亚历山大藻和球形棕囊藻赤潮生物生长的抑制作用, 以期对相关赤潮的治理提供参考和依据。

1 材料和方法

实验材料 塔玛亚历山大藻由厦门大学海洋环境科学研究中心提供, 由暨南大学水生生物研究所于 1991 年从香港海域底泥中分离获得; 球形棕囊藻由暨南大学水生生物研究所藻种室提供, 由暨南大学水生生物研究所于 1997 年 7 月采自广东饶平海域。特丁基三嗪购自南京化工大学武进市水质稳定剂厂(产品编号 JN-978), 用前配制成一定浓度的母液。

藻种培养 实验前将保存藻种转移到三角瓶并放置在培养温度 $21 \pm 1^\circ\text{C}$ 、光照强度 4 000 lx、光暗比 12 h: 12 h 的 LRH-250-GS 型光照人工气候培养箱中进行扩大培养, 细胞生长至指数生长期时用于实验。塔玛亚历山大藻的培养液为人工海水加营养盐配成的 k 培养液经 $0.20 \mu\text{m}$ 纤维滤膜除菌所得^[10]。球形棕囊藻的培养液为人工海水加营养盐配成的 f/2 培养液经 $0.20 \mu\text{m}$ 纤维滤膜除菌所得。

杀藻实验 当塔玛亚历山大藻(约 8 d)和球形棕囊藻(约 6 d)母液生长到指数增长期, 达到一定的藻密度时, 在一系列 200 ml 锥形瓶中分别加入 100 ml 藻液, 再用精密移液器依实验要求的浓度加入一定量的特丁基三嗪母液, 以不加杀藻剂为空白对照, 双份平行实验, 置培养箱中继续培养, 分别于 24, 48, 72, 96, 120 h 测量藻液 680 nm 处光密度值(OD 值), 并由此计算藻细胞数^[7]。倒置显微镜下观察藻细胞^[11], 计算特丁基三嗪对藻细胞的杀灭效果。

除藻率 = (对照样品的藻细胞数 - 加入除藻剂样品中的藻细胞数) / 对照样品的藻细胞数

2 结果和分析

2.1 特丁基三嗪对塔玛亚历山大藻的除藻效果

2.1.1 不同浓度特丁基三嗪对塔玛亚历山大藻的去除效果

塔玛亚历山大藻起始藻细胞密度为 $7.8 \times 10^6 \text{ cells L}^{-1}$ 时, 在装有 100 ml 藻液的锥形瓶中加入终浓度分别为 1.0, 0.8, 0.6, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1, 0.05, 0.04 mg L^{-1} 的特丁基三嗪, 每隔 24 h 测定培养液藻细胞密度。

从图 1 可知, 在加入除藻剂特丁基三嗪的浓度

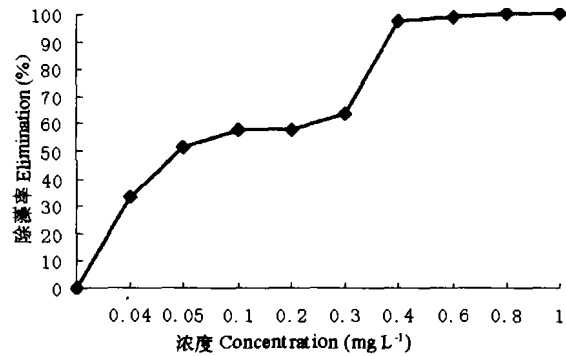


图 1 不同浓度特丁基三嗪对塔玛亚历山大藻 72 h 的去除效果

Fig. 1 Elimination effect of different concentrations of tertbutyl triazine on *A. tamarensis* within 72 h
起始藻密度 $7.8 \times 10^6 \text{ cells L}^{-1}$

大于 0.4 mg L^{-1} 时, 72 h 的除藻率达到 90% 以上, 而浓度为 0.3 mg L^{-1} 时的除藻率只有 63.6%。作用 24 h 后, 相对对照组, 除藻剂浓度大于 0.3 mg L^{-1} 组的藻液颜色变淡, 藻溶液发出一股腥臭味, 瓶底出现无色沉淀, 可能是藻细胞死亡分解所致。显微镜下观察发现 0.4 mg L^{-1} 处理的藻细胞开始裂解死亡。

2.1.2 时间对特丁基三嗪除藻效果的影响

从图 2 可知, 特丁基三嗪浓度为 0.1 mg L^{-1} 时, 除藻效果较差, 整个作用时间最高除藻率不到 65%, 72 h 后除藻率不再增加。96 h 时只有等于或大于 0.2 mg L^{-1} 的特丁基三嗪, 仍能维持 80% 以上的除藻率, 因此, 可认为 0.2 mg L^{-1} 为特丁基三嗪对塔玛亚历山大藻 96 h 的最低有效除藻浓度。但 120 h 后, 镜检发现 0.2 mg L^{-1} 特丁基三嗪的除藻率下降, 藻细胞开始增多; 大于 0.3 mg L^{-1} 组细胞裂解成碎片, 继

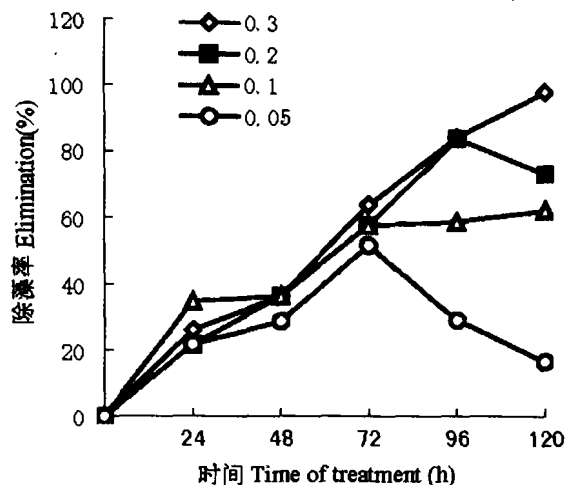


图 2 时间对特丁基三嗪(mg L^{-1})去除塔玛亚历山大藻效果的影响

Fig. 2 Effect of treatment time on the elimination of *A. tamarensis* by tertbutyl triazine

续培养数天,未能观察到藻细胞。低于 0.3 mg L^{-1} 各组藻液颜色则逐渐变深,藻细胞数目逐渐增多。

2.2 特丁基三嗪对球形棕囊藻的除藻效果

2.2.1 不同浓度的特丁基三嗪对球形棕囊藻的去除效果

棕囊藻起始藻细胞密度为 $1.24 \times 10^9 \text{ cells L}^{-1}$ 时,在装有 100 ml 藻液的锥形瓶中加入终浓度分别为 2.0, 1.0, 0.9, 0.8, 0.6, 0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1, 0.05 mg L^{-1} 的特丁基三嗪,每隔 24 h 测定培养藻细胞密度。72 h 时对球形棕囊藻的作用效果如图 3 所示。

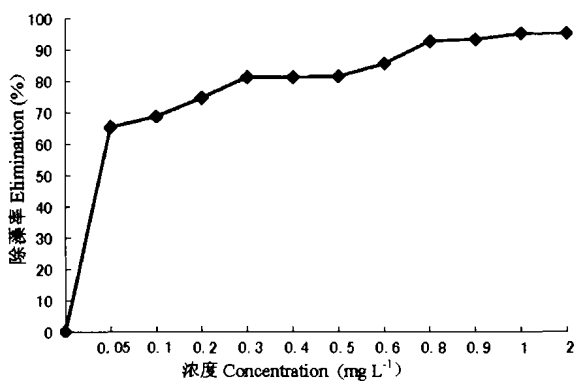


图 3 不同浓度特丁基三嗪对棕囊藻 72 h 的去除效果

Fig. 3 Effect of different concentrations of tertbutyl triazine on elimination of *P. globosa* within 72 h 起始藻密度 $1.24 \times 10^9 \text{ cells L}^{-1}$

从图 3 可以看出,特丁基三嗪对球形棕囊藻的除藻效果与其浓度明显相关。随着特丁基三嗪浓度的增加,其对球形棕囊藻的去除效果增大。加药 72 h,小于 0.3 mg L^{-1} 时除藻效果不理想,而当浓度等于或大于 0.3 mg L^{-1} 时除藻率可达到 80% 以上。加入特丁基三嗪 24 h 后,大于 0.8 mg L^{-1} 组的藻液变成近无色; $0.6, 0.5, 0.4, 0.3, 0.2 \text{ mg L}^{-1}$ 组的藻液颜色与对照组相比明显变浅。

2.2.2 时间对特丁基三嗪除藻效果的影响

从图 4 可知,随特丁基三嗪浓度的增加,其对球形棕囊藻的去除效果增大。特丁基三嗪浓度为 0.05 mg L^{-1} 时,120 h 除藻率高达 66%。但只有当除藻剂的浓度达到 0.3 mg L^{-1} 时,96 h 的除藻率才能达到 80% 以上,达到基本除藻的目的。因此,我们确定 96 h 时特丁基三嗪对球形棕囊藻的最低有效浓度为 0.3 mg L^{-1} 。藻液继续培养数天,大于或等于 0.3 mg L^{-1} 组的藻液,未能观察到藻细胞的存在,而低于此浓度组的藻细胞逐渐增多,藻液颜色逐渐变深。

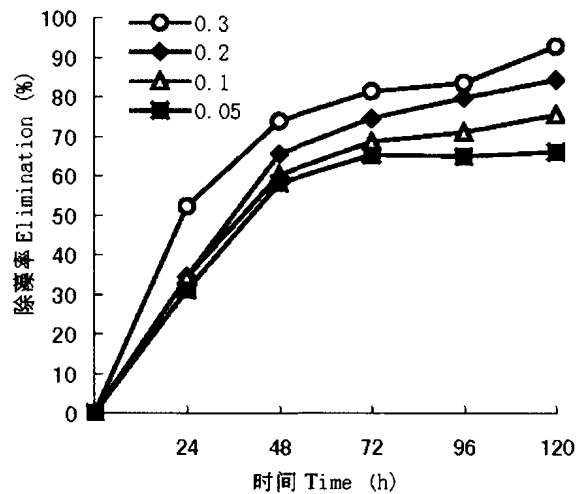


图 4 时间对特丁基三嗪 (mg L^{-1}) 去除棕囊藻效果的影响

Fig. 4 Effect of treatment time on elimination of *P. globosa* by tertbutyl triazine

3 讨论

本实验研究发现,棕囊藻密度在 $10^9 \text{ cells L}^{-1}$ 数量级时,塔玛亚历山大藻密度在 $10^6 \text{ cells L}^{-1}$ 数量级时,特丁基三嗪对棕囊藻、塔玛亚历山大藻的 96 h 有效控制和杀灭浓度分别为 0.3 mg L^{-1} 、 0.2 mg L^{-1} 。特丁基三嗪的浓度为 0.05 mg L^{-1} 时,对棕囊藻的 72 h 除藻率即可达到 65.25%,推测在低于 0.05 mg L^{-1} 对棕囊藻有一定的去除作用。

在赤潮发生水域,大部分棕囊藻总细胞数仅为 10^4 – $10^5 \text{ cells L}^{-1}$,只有少部分达到 $10^6 \text{ cells L}^{-1}$ ^[12],比本实验藻密度低 3 个数量级。按照日本安达六郎根据赤潮藻密度评价赤潮发生的标准,发生塔玛亚历山大藻赤潮时其藻密度为 $10^6 \text{ cells L}^{-1}$ 。不过,塔玛亚历山大藻一般很难以优势种形成赤潮。但是,在较低密度下塔玛亚历山大藻就能蓄积较高的麻痹性贝毒而产生毒害作用,密度为 100 cells L^{-1} 时对栉孔扇贝受精卵的孵化影响已经很明显^[13,14],所以在其大规模爆发之前对其进行治理非常必要。因此,实际进行棕囊藻、塔玛亚历山大藻赤潮治理时,所需特丁基三嗪的浓度可能会更低。

特丁基三嗪是一种强杀藻剂,能有效地杀灭和控制藻类,具有适用 pH 值广,杀藻效果好等特点,其毒害作用与光合作用有关。三嗪类物质能捕捉光合作用中的电子,干扰光合作用中电子转移过程,进而杀灭杂草和藻类,但对不能进行光合作用的生物毒性则较低。Gaggi 等研究了 5 种常用三嗪类物质对海洋甲壳类 *Artemia salina* 卤虫的毒性^[15],结果

显示, 24 h 的 EC_{50} (半抑制浓度)均大于 20 mg L^{-1} 。三嗪类物质对动物细胞的遗传毒性也很低。 15 mg L^{-1} 三嗪类物质不能诱发人淋巴细胞染色单体交换、染色体失常^[9]。因此, 可以认为特丁基三嗪是一种低毒、高效的除藻剂。但是, 由于三嗪类物质对海洋生物生长的影响及其毒副作用报道不多, 其对海洋生态环境的影响尚不清楚。因此, 有必要对其进行生态安全性评价。另外, 由于海洋环境和生态的复杂性, 在实际水体中, 三嗪类物质的灭藻效果如何也需进一步的探讨^[16]。

参考文献

- [1] Dale B, Yentsch C M. Red tide and paralytic shellfish poisoning [J]. *Oceanus*, 1978, 21:41-49.
- [2] Hallegraeff G M. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase [J]. *Phycologia*, 1993, 32:75-79.
- [3] Jiang T J(江天久), Ying Y W(尹伊伟), Lou Y M(骆育敏), et al. Paralytic shellfish toxins in shellfish from Daya Bay and Dapeng Bay [J]. *Mar Envir Sci (海洋环境科学)*, 2000, 19(2):1-5. (in Chinese)
- [4] Lin Y S(林元烧). Red tide caused by a marine toxic dinoflagellate, *Alexandrium tamarense* (Lebour) Baleon, in shrimp ponds in Xiamen [J]. *J Oceanogr Taiwan Str (台湾海峡)*, 1996, 15(1):16-18. (in Chinese)
- [5] Cheng J F(陈菊芳), Xu N(徐宁), Jiang T J(江天久), et al. A report of *Phaeocystis globosa* bloom in coastal water of Southeast China [J]. *J Jinan Univ (Nat'l Sci) (暨南大学学报自然科学版)*, 1999, 20(3):124-129. (in Chinese)
- [6] Chen Y Q, Wang N, Zhang P, et al. Molecular evidence identifies bloom-forming *Phaeocystis* (Prymnesiophyta) from coastal waters of southeast China as *Phaeocystis globosa* [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2002, 30:15-22.
- [7] Zhang H(张珩), Yang W D(杨维东), Gao J(高洁), et al. Inhibition and elimination of chlorine dioxide on *Phaeocystis globosa* [J]. *Chin J Appl Ecol(应用生态学报)*, 2003, 14(7):1173-1176. (in Chinese)
- [8] Worthing C R, Walker S B. The Pesticide Manual [M]. 7th ed. Lavenham: The Lavenham Press, 1983.
- [9] Andrew D K, Carolyn L D, Alan H T. Cytogenetic studies of three triazine herbicides I. *In vitro* studies [J]. *Mut Res*, 2000, 465:53-59.
- [10] Yan T(颜天), Zhou M J(周明江), Qian P Y(钱培元). Study on the combined effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of dinoflagellate *Alexandrium tamarense* [J]. *Acta Oceano Sin (海洋学报)*, 2000, 24(2):114-120. (in Chinese)
- [11] Shen P P(沈萍萍), Wang Z H(王朝晖), Qi Y Z(齐雨藻), et al. An optical density method for determination of microalgal biomass [J]. *J Jinan Univ (Nat'l Sci) (暨南大学学报自然科学版)*, 2001, 33(3):115-119. (in Chinese)
- [12] Huang C J(黄长江), Dong Q X(董巧香), Zheng L(郑磊). Taxonomic and ecological studies on a large scale *Phaeocystis pouchetii* bloom in the southeast coast of China during late 1997 [J]. *Ocean Limn Sin (海洋与湖沼)*, 1999, 30(6):581-590. (in Chinese)
- [13] Yan T(颜天), Fu M(傅萌), Wang Y F(王云峰), et al. The effect of the dinoflagellate of *Alexandrium tamarense* on early development of *Chlamys farreri* [J]. *Acta Sci Circums (环境科学学报)*, 2002, 22(2):241-246. (in Chinese)
- [14] Zhang J H(张建辉), Xia X(夏新), Liu X Q(刘雪芹), et al. Progress and prospect on red tide research [J]. *Envir Monitor Chin (中国环境监测)*, 2002, 18(2):20-25. (in Chinese)
- [15] Gaggi C, Sbrilli G, El Naby A M H, et al. Toxicity and hazard ranking of s-triazine herbicides using microtox, two green algal species and a marine crustacean [J]. *Envir Toxic Chem*, 1995, 14(6):1065-1069.
- [16] Zhang H(张珩), Liu J S(刘洁生), Yang W D(杨维东), et al. Studies on biquaternary ammonium salt algicide for removing red tide [J]. *Mar Envir Sci (海洋环境科学)*, 2003, 22(4):68-71. (in Chinese)

《亚热带植物科学》2005 年征订启事

《亚热带植物科学》(原《亚热带植物通讯》)系公开发行的学术性期刊。1972 年创刊, 原名《三胶通讯》, 1974 年起更名为《亚热带植物通讯》, 1983 年起由内部发行转为公开发行, 2000 年起由半年刊改为季刊, 2000 年第 4 期起更名为《亚热带植物科学》。先后被《乌利希国际期刊指南》、《中国生物学文摘》、《中文科技期刊数据库》、《中国学术期刊综合评价数据库》、《中国学术期刊(光盘版)》、《中国科技期刊引证报告(扩刊版)》、《中国核心期刊(遴选)数据库》等数据库收录, 并在“中国期刊网”、“万方数据—数字化期刊群”等全文上网。

《亚热带植物科学》主要刊载亚热带植物的育种栽培、生理生化、形态结构、生态、分类、资源保护与开发利用以及园林绿化、园艺花卉等方面的最新研究论文、报告、简报及综述。季刊, 大 16 开, 每册定价 6.00 元(另加邮包费 1 元), 全年 28.00 元(含邮包费), 季末月 30 日出版。欢迎订阅, 欢迎投稿。

订阅处: 全国非邮发报刊联订服务部(300381 天津市河西区大寺泉集北里别墅 17 号)。漏订者可直接向本刊编辑部邮购, 汇款地址: 361006 厦门市嘉禾路 780 号《亚热带植物科学》编辑部。联系电话: 0592-5654157 E-mail: TSZLS@public.xm.fj.cn