

湛江球形棕囊藻赤潮除藻试验

江涛^{1a}, 江天久^{1b,2*}, 李鹏^{1b}, 曾淼^{1a}, 孟建新^{1a}

(1. 暨南大学, a. 生命科学技术学院; b. 理工学院, 广州 510632; 2. 华南师范大学生命科学院, 广州 510631)

摘要: 2005年4月,在广东湛江港赤潮区采集球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*),在室内用新洁尔灭和异噻唑啉酮两种除藻剂进行棕囊藻的杀灭试验。结果表明,新洁尔灭对赤潮水体中球形棕囊藻的72 h LC₅₀为0.96 mg L⁻¹;与新洁尔灭相比,异噻唑啉酮的除藻效果更为明显,其对球形棕囊藻的72 h LC₅₀为0.54 mg L⁻¹。新洁尔灭和异噻唑啉酮复配时具有协同作用,可提高除藻能力,新洁尔灭和异噻唑啉酮浓度比为1.3:0.3(配比为4.3:1)时除藻效果最优,2 d的除藻率达到89%,协同指数为0.78。两种除藻剂对鲮鱼(*Mugil cephalus*)苗72 h的毒性试验表明,新洁尔灭和异噻唑啉酮浓度分别在2.0和0.3 mg L⁻¹以下除藻是安全的。

关键词: 球形棕囊藻; 除藻剂; 新洁尔灭; 异噻唑啉酮; 协同效应; 广东

中国分类号: Q948.885.3

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2006)01-0014-05

Experiments in Removing Red Tide Alga *Phaeocystis globosa* from Zhanjiang by Algicides

JIANG Tao^{1a}, JIANG Tian-jiu^{1b,2*}, LI Peng^{1b}, ZENG Miao^{1a}, MENG Jian-xin^{1a}

(1a. College of Life Science and Technology, Jinan University; 1b. College of Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2. College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract: Algicides, bromogeramine (B) and isothiazolone (I), were used for removing *Phaeocystis globosa* in the experiments in containers of 450 ml seawater with 10⁹ cells L⁻¹ of algae collected in April 2005 from Zhanjiang Seaport, Guangdong Province, where red tide had happened in January 2004. The results showed that LC₅₀ of isothiazolone was 0.54 mg L⁻¹ for the algae treated for 72 hours, which was more effective than that of bromogeramine (LC₅₀=0.96 mg L⁻¹). Alga-removal effects of both algicides used in combination showed synergistic action. The proportion of bromogeramine to isothiazolone being 4.3 to 1 gave best result. Toxicity tests on little fishes (*Mugil cephalus*) showed that 2.0 mg L⁻¹ bromogeramine or 0.3 mg L⁻¹ isothiazolone were safe for fishes in the removal of algae in 72 hours.

Key words: *Phaeocystis globosa*; Algaecide; Bromogeramine; Isothiazolone; Synergistic effect; Guangdong

球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)是一种能产生溶血毒素的赤潮藻,并且在水华发生期间可能产生丙烯酸(Acrylic acid)和二甲硫醚(Dimethyl sulfide, DMS)^[1],对环境和生态平衡造成较大威胁,是危害严重的赤潮藻之一。1997年10月在我国东南沿海首次发生大规模棕囊藻类赤潮,1999年7月又在饶平等海域发生该藻类赤潮^[2],这些赤潮的发

生均给当地的渔业造成了损失。2004年1月湛江港爆发200多平方公里海域的球形棕囊藻赤潮,本次赤潮持续时间4个月,造成大量星斑裸颊鲷(*Lethrinus nebulosus*,俗称尖嘴、龙占)成鱼及鱼苗和部分黄鳍鲷(*Sparus latus*)成鱼的死亡。湛江港是我国主要的水产养殖基地,对虾的出口约为我国对虾出口量的一半以上,为有效减小棕囊藻赤潮对水

收稿日期: 2005-07-20 接受日期: 2005-10-31

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目(2001CB409709, 2001CB409710)资助

* 通讯作者 Corresponding author

产养殖的破坏, 迫切需要一种对棕囊藻赤潮有效可行的治理技术。目前除藻技术主要有物理、生物和化学除藻等方法, 化学除藻技术发展比较成熟, 操作简单, 一次性使用成本低, 因此得到广泛应用。但由于化学除藻可能造成环境污染和生态平衡的破坏, 所以高效、低成本、低毒和易分解的有机除藻剂更应得到重视和应用。

新洁尔灭的有效成分十二烷基二甲基苄基溴化铵是季铵盐类, 对细菌和藻类杀灭作用良好, 且受水质影响小, 低毒和无积累毒性^[3]; 异噻唑啉酮是一种较新的有机硫化物杀生剂, 具有高效、低毒和易分解的特点, 对水体污染程度小^[2]。本文采用这两种有机化合物除藻剂, 研究这两种药物及其复配对天然赤潮藻的杀灭效果, 以期对棕囊藻赤潮的现场除藻提供参考。

1 材料和方法

1.1 实验材料

于 2005 年 4 月中上旬球形棕囊藻 (*Phaeocystis globosa*) 赤潮爆发期间, 从赤潮区采集球形棕囊藻和赤潮海水带回实验室立即进行除藻试验。鲮鱼 (*Mugil cephalus*) 苗 (平均体重和长度分别为 1.3 g、4.5 cm) 从当地鱼苗养殖场获得, 试验前转移至温度为 20℃ 的实验室内暂养 1 d, 挑选健康活泼的鱼苗作为试验鱼。新洁尔灭 (上海经纬化工有限公司生产) 和异噻唑啉酮 (石家庄市新华工业洗涤剂厂生产) 用前均配成一定浓度的母液。

1.2 杀藻实验

以下杀藻实验均设立两组平行和空白对照 (不添加除藻剂), 进行两次重复实验, 除藻率取两次实验的平均值。藻细胞密度用光密度法测定, 设定分光光度计的吸收波长为 675 nm^[4,5], 藻细胞形态的变化通过显微镜观察。

球形棕囊藻赤潮藻细胞密度可达 10^8 cells L⁻¹ 以上^[6], 本实验采用较高密度藻细胞的水体 (10^9 cells L⁻¹) 进行除藻研究, 以确定合适的除藻剂浓度。

在装有 450 ml 棕囊藻赤潮水体 (藻细胞密度约为 2×10^9 cell L⁻¹) 的容器中, 准确加入一定量的新洁尔灭母液, 使终浓度分别为 0.3, 0.7, 1.0, 1.3, 1.7, 2.0, 2.5, 3.0 mg L⁻¹。每隔 24 h 测定吸光度, 与对照组相比, 确定新洁尔灭对球形棕囊藻的杀灭效果。

在装有 450 ml 棕囊藻赤潮水体 (藻细胞密度约为 2×10^9 cell L⁻¹) 的容器中, 准确加入一定量的异噻唑啉酮母液, 使终浓度分别为 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8 mg L⁻¹。每隔 24 h 测定吸光度, 与对照组相比, 确定异噻唑啉酮对球形棕囊藻的杀灭效果。

为了避免单一的除藻剂造成赤潮藻类产生抗药性和防止药剂浓度过高对海洋水体生态平衡造成破坏, 以及考虑到节约成本, 提高效率等诸因素, 采取新洁尔灭和异噻唑啉酮复配进行除藻实验。协同指数^[7]SI 计算公式为:

$$SI = \frac{C_a}{C_A} + \frac{C_b}{C_B}$$

式中: C_a 、 C_b 分别为除藻剂复配达到某一除藻率的 A、B 浓度, C_A 、 C_B 分别为除藻剂 A、B 单独使用时达到相同除藻率的浓度。协同指数小于 1 表示二者复配有协同效应, 大于 1 则表示无协同效应。

1.3 除藻剂毒性试验

用当天采集的赤潮区天然海水稀释药剂母液配成所需浓度, 棕囊藻细胞密度约 8×10^7 cells L⁻¹, 每个容器中海水体积为 550 ml, 放养鲮鱼苗 5 只, 双份平行实验, 使每个浓度组的鱼苗总数为 10 只, 设立药品空白对照组。实验条件为 20℃ 恒温, 日光灯照射白昼交替 (16 h: 8 h), 定时对容器中海水进行曝气, 试验期间不换除藻剂, 观察记录鱼苗中毒症状和死亡数量, 及时剔除死亡个体。

$$\text{半致死浓度}^{[8]} LC_{50} = C1 + \frac{50\% - P1}{P2 - P1} \times (C2 - C1)$$

其中: $C2$ 、 $C1$ 分别为存活率接近 50% 的低端质量浓度和高端质量浓度; $P1$ 、 $P2$ 分别为相应的死亡百分数。

$$\text{安全浓度}^{[8]} = 48 \text{ h } LC_{50} \times 0.3 / (24 \text{ h } LC_{50} / 48 \text{ h } LC_{50})^2$$

2 结果和分析

2.1 除藻剂的除藻效果

2.1.1 新洁尔灭的除藻效果

新洁尔灭 72 h 的除藻效果如图 1 所示, 新洁尔灭的浓度与除藻率存在明显的正相关。当浓度小于 1.3 mg L⁻¹ 时, 除藻效果不理想。当浓度为 1.7 mg L⁻¹ 时, 新洁尔灭 72 h 除藻效率为 85%, 除藻效果较理想, 显微镜观察到藻细胞壁破坏严重, 藻细胞产生了自溶现象。当浓度大于 2.0 mg L⁻¹ 时, 除藻率增幅较小。在除藻剂浓度 0.3–2.0 mg L⁻¹ 范围内做浓度与

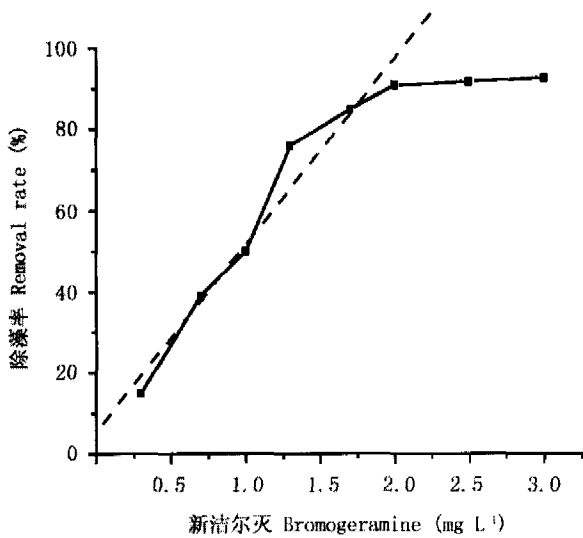


图 1 不同浓度的新洁尔灭对球形棕囊藻的杀灭效果 (72h)
Fig. 1 Effect of bromogeramine at different concentrations on the removal of *P. globosa* within 72 hours

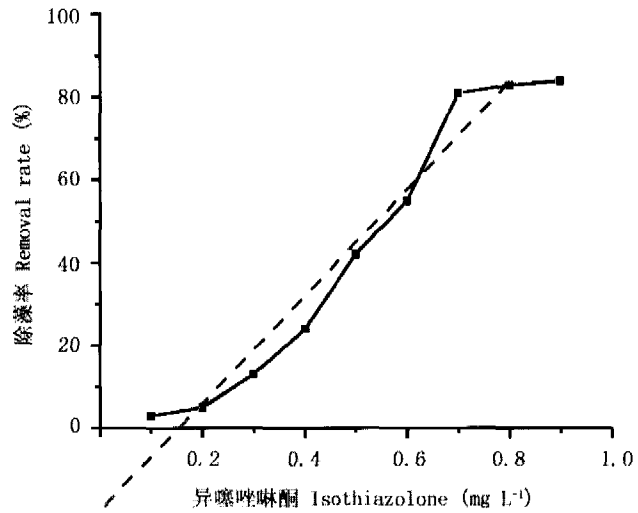


图 2 不同浓度的异噻唑啉酮对球形棕囊藻的杀灭效果 (72h)
Fig. 2 Effect of isothiazolone at different concentrations on the removal of *P. globosa* within 72 hours

除藻率的线性回归方程为: $Y=46.04X+5.62$

其中, Y 为除藻率百分数, X 为除藻剂浓度, 除藻剂浓度和除藻率之间相关显著 ($r=0.979$, $P>0.01$)。由回归方程得出 72 h $LC_{50}=0.96 \text{ mg L}^{-1}$ 。

2.1.2 异噻唑啉酮的除藻效果

异噻唑啉酮的浓度与除藻率存在明显的正相关 (图 2)。当浓度大于 0.7 mg L^{-1} 时, 异噻唑啉酮 72 h 的除藻效率达到 80% 以上, 除藻效果较好。当浓度小于 0.6 mg L^{-1} 时, 除藻效果不理想。因此, 可确定除藻剂最低有效浓度为 0.7 mg L^{-1} , 比洪爱华等^[2]确定的除藻剂最低有效浓度 (0.3 mg L^{-1}) 高 2 倍多, 造成这种差异的原因可能是球形棕囊藻的来源不同引起的。洪爱华等采用的实验对象系光照培养

箱内驯化培养的球形棕囊藻, 与本实验采用的赤潮水体中天然的棕囊藻在藻泡体积、颜色和生长环境等各方面均有较大差异, 这些差异可能是两实验在相同的时间内达到相同的除藻率所需的除藻剂的浓度差别较大的主要原因。

异噻唑啉酮浓度大于 0.7 mg L^{-1} 时, 除藻率增幅较小, 在除藻剂浓度 $0.1-0.7 \text{ mg L}^{-1}$ 范围内做浓度与除藻率百分数的线性回归方程为:

$$Y=129.64X-20$$

其中, Y 为除藻率百分数, X 为除藻剂浓度, 回归线如图 2 所示, 除藻剂浓度和除藻率之间相关显著 ($r=0.968$, $P>0.01$)。由回归方程得出 72 h $LC_{50}=0.54 \text{ mg L}^{-1}$ 。

表 1 新洁尔灭与异噻唑啉酮不同比例复配时的除藻率及协同指数 (48 h)

Table 1 Effects of bromogeramine and isothiazolone in combination on the removal of alga within 48 hours

新洁尔灭 Bromogeramine (B) (mg L ⁻¹)	异噻唑啉酮 Isothiazolone (I) (mg L ⁻¹)	配比 Proportion B : I	除藻率 Removal rate (%)	协同指数 Synergy index
2.0	0.15	13:1	84	0.97
1.3	0.2	6.5:1	80	0.90
1.0	0.2	5:1	78	0.97
0.7	0.2	3.5:1	49	1.04
1.3	0.3	4.3:1	89	0.78
2.0	0.4	5:1	91	1.02
1.0	0.4	2.5:1	83	0.84
0.7	0.4	1.8:1	77	0.99

2.1.3 新洁尔灭与异噻唑啉酮复配除藻

表 1 所示的除藻率是在藻液中加入除藻剂后 48 h 的实验结果。除新洁尔灭和异噻唑啉酮复配浓度为 0.7、0.2 mg L⁻¹ 和 2、0.4 mg L⁻¹ 的协同指数大于 1 外, 其他组的浓度配比均显示出协同作用。两种除藻剂浓度分别为 2、0.4 mg L⁻¹ 时, 因单一除藻剂已经达到较高的除藻率, 掩盖了两者的协同作用, 而浓度分别为 0.7、0.2 mg L⁻¹ 时, 则两者的除藻作用均太弱, 同样不能表现出协同作用。两种除藻剂配比为 2.5:1~4.3:1 的复配显示出较好的协同作用, 但是同时发现这种配比还必须在合适的浓度范围内才具有最好的协同作用和杀藻效果。结合除藻率的要求和复配协同作用, 新洁尔灭和异噻唑啉酮浓度比为 1.3:0.3 (配比为 4.3:1 最优, 2 d 的除藻率达到 89%, 协同指数为 0.78, 杀藻效果和复配协同效应较好。

异噻唑啉酮是一种亲电子型杀生剂, 能够与构成细胞壁和细胞膜的成分发生反应, 抑制电子转移和 ATP 的生成, 从而抑制细胞的呼吸作用导致细胞死亡。新洁尔灭是一种季铵盐型强力杀菌剂, 广泛应用于医疗卫生的杀菌消毒工作, 同时由于其除藻效果良好而逐渐被应用于除藻, 作用机理一般认为细菌及藻类细胞壁带负电荷, 因而其表面吸附带正电荷的新洁尔灭的活性成分十二烷基二甲基苄基溴化铵, 这种季铵盐型阳离子通过渗透和扩散进入细胞膜, 阻碍细胞膜的半渗透作用, 并进一步进入细胞内部, 影响酶的代谢从而使蛋白质变性, 达到除菌和除藻的作用^[3,9]。异噻唑啉酮作为亲电子杀生剂能够比较容易扩散到细胞膜外层, 杀死细胞并破坏生物膜结构, 可使接近其表面的细胞分离脱落, 从而使十二烷基二甲基苄基溴化铵更快地进入生物膜内部, 因此二者复配能产生协同作用, 从而更加有效杀灭赤潮藻类^[10]。

2.2 除藻剂对鱼苗的毒性

由于受水体中浮游生物、水温、水质、pH 值、硬度、有机质等诸多因素影响, 赤潮水体和纯净海水中的除藻剂对鱼的毒性可能不一致, 所以必须确立在赤潮水体现场除藻过程中除藻剂的适宜浓度, 这样既能保证较高的除藻率, 又不致对鱼类造成伤害。

2.2.1 新洁尔灭对鲮鱼苗的毒性

随着药物浓度的增加, 鲮鱼苗的死亡率逐渐增加(表 2)。由死亡率计算出新洁尔灭对鲮鱼苗在 24, 48, 72 h 的半致死质量浓度 LC₅₀ 分别是 6.5、

表 2 新洁尔灭对鲮鱼苗的毒性

Table 2 The effect of bromogeramine on the death rate of *Mugil cephalus* little fish

新洁尔灭 Bromogeramine (mg L ⁻¹)	不同时间的死亡鱼数(条) Death fishes at different time		
	24 h	48 h	72 h
0	0	0	0
3.0	0	0	0
4.0	0	1	1
5.0	2	2	3
7.0	6	6	7
10.0	10	10	10
12.0	10	10	10

6.5、6.0 mg L⁻¹。

2.2.2 异噻唑啉酮对鲮鱼苗的毒性

随着异噻唑啉酮浓度的增加, 鲮鱼苗的死亡数逐渐增加(表 3)。由死亡率计算出异噻唑啉酮对鲮鱼苗在 24, 48, 72 h 的半致死质量浓度均为 0.9 mg L⁻¹。表 3 可以看出, 24 h 后随暴露在除藻剂中时间的延长, 鲮鱼苗死亡数并没有增加(除异噻唑啉酮浓度为 1.2 mg L⁻¹ 时, 在 24~48 h 内死亡 1 条外), 除藻剂在 24 h 后对鲮鱼苗的毒性作用的减小, 这可能与异噻唑啉酮易分解的性质有关, 见光以及天然海水中的藻类和化合物的影响均可能促进其分解和损耗, 因而在一段时间后毒性减弱。

表 3 异噻唑啉酮对鲮鱼苗的毒性

Table 3 The effect of isothiazolone on the death rate of *Mugil cephalus* little fish

异噻唑啉酮 Isothiazolone (mg L ⁻¹)	不同时间的死亡鱼数(条) Death fishes at different time		
	24 h	48 h	72 h
0	0	0	0
0.4	0	0	0
0.6	0	0	0
0.8	4	4	4
1.0	7	7	7
1.2	9	10	10
1.4	10	10	10

2.2.3 新洁尔灭和异噻唑啉酮复配对鱼苗的毒性

新洁尔灭和异噻唑啉酮复配后的毒性试验表明, 两者浓度分别为 5、0.4 mg L⁻¹ 时, 受试鱼苗 72 h 的死亡率为 30%, 浓度等于或小于 4、0.4 mg L⁻¹ 时, 72 h 无鱼苗死亡。

2.3 除藻剂在赤潮水体中除藻的适宜浓度

由安全浓度公式计算出新洁尔灭对鲢鱼苗的安全质量浓度为 2.0 mg L^{-1} , 实验证明新洁尔灭浓度为 2.0 mg L^{-1} 时, 能够具有较好的除藻效果, 鉴于成本与环境等方面考虑, 新洁尔灭在赤潮水体中除藻的适宜浓度应在 2.0 mg L^{-1} 以内。

异噻唑啉酮对鲢鱼苗的安全质量浓度为 0.3 mg L^{-1} , 而此浓度的异噻唑啉酮除藻效果较差, 达到有效的除藻率所需的药剂浓度要高于此浓度, 因此异噻唑啉酮应用于棕囊藻赤潮杀藻可能对养殖生物存在一定风险。

比较发现, 异噻唑啉酮对球形棕囊藻 72 h LC_{50} (0.54 mg L^{-1}) 约为新洁尔灭对球形棕囊藻 72 h LC_{50} (0.96 mg L^{-1}) 的一半, 说明异噻唑啉酮的杀藻能力较强。由于本实验毒性试验生物种类仅为鲢鱼一种, 而且鉴于异噻唑啉酮除藻效果好, 应进一步研究其对水体中其他生物如虾苗等的毒性, 这样可针对不同的养殖对象, 当发生棕囊藻赤潮时以采用不同的除藻剂。

选择合适浓度范围内的复配不仅能够提高除藻效率, 而且能够减小对环境的危害。新洁尔灭和异噻唑啉酮浓度比为 1.3:0.3(配比为 4.3:1)时, 杀藻效果和复配协同效应较好, 而且药剂浓度低, 比较适合于现场除藻。

参考文献

[1] He J W(何家苑), Shi Z X(施之新), Zhang Y H(张银华), et al.

- Morphological characteristic and toxins of *Phaeocystis* cf. *pouchitii* (Prymnesiophyceae) [J]. *Ocean Limn Sin(海洋与湖沼)*, 1999, 30(2):173-179.(in Chinese)
- [2] Hong A H(洪爱华), Yin P H(尹平和), Zhao L(赵玲), et al. Povidoneiodine and isothiazolone for removing red tide algae *Phaeocystis globosa* [J]. *Chin J Appl Ecol(应用生态学报)*, 2003, 14(7):1177-1180.(in Chinese)
- [3] 胡廷嵩. 循环冷却水处理用杀菌剂及其发展动向 [J]. *湖北化工*, 1994, (3):44-47.
- [4] Lang B(朗波), Zhao X L(赵晓蕾). Study on the assessment of algacide [J]. *Ind Wat Treat(工业水处理)*, 2001, 21(4):27-29.(in Chinese)
- [5] 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(暨南大学学报)*, 2001, 22(3):115-119.(in Chinese)
- [6] 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 pouchitii* 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)
- [7] Zhao X L(赵晓蕾), Yang D H(杨德红), Yan L H(严莲荷). Study on synergism of composite bactericides [J]. *Ind Wat Treat(工业水处理)*, 1999, 19(6):31-33.(in Chinese)
- [8] Zhang C R(张长荣), Jin C L(金聪玲). The synthetic progress of cation active bactericide and the relation between its structure and fungicidal effectiveness [J]. *Shaanxi Chem Ind(陕西化工)*, 1997, (9):1-13.(in Chinese)
- [9] Ludensky M L, Himpler F J, Sweeny P G. Control of biofilms with cooling water biocides [J]. *Mat Perform*, 1998, 37(10):56-59.