水体中生石灰和漂白粉对小球藻生长抑制的研究

王秀英,周军辉

(扬州大学动物科学与技术学院,江苏 扬州 225009)

摘要:研究了水体中生石灰和漂白粉对淡水小球藻的生长的影响。淡水小球藻在含有不同浓度的生石灰或漂白粉的培养液中培养,培养24 h后开始使用分光光度计检测培养液在650 nm的吸光度值,每隔24 h检测1次,连续检测3次。研究结果表明,培养液中生石灰和漂白粉的存在均对小球藻的生长起到抑制作用,并且2者的浓度越高,抑制作用越明显。在24 h、48 h和72 h,生石灰抑制小球藻生长的半效应浓度(EC_{50})分别是28.57、10.77和9.79 mg/L,漂白粉抑制小球藻生长的半效应浓度(EC_{50})分别是2.17、1.10和0.91 mg/L。

关键词:淡水小球藻;生石灰;漂白粉;生长抑制;半效应浓度(EC_{50})

中图分类号:Q175 **文献标志码**:A **文章编号**:1674-3075(2009)02-0145-03

小球藻(*Chlorella vulgaris*)为绿藻门(Chlorophyta)绿藻纲(Chlorophyceae)绿球藻目(Chlorococcales)小球藻科(Chlorellaceae)小球藻属(*Chlorella*)普生性单细胞藻。在水产养殖方面,小球藻可以直接或间接作为对虾和多种名贵经济鱼类苗种的饵料,在生产中的运用越来越广泛。而在鱼病防治方面,生石灰和漂白粉一直作为常用消毒药物,使用效果显著。本实验选择生石灰和漂白粉这2种常用药物,并设置其在小球藻培养液中形成一定的浓度梯度,研究它们在水体中的不同浓度对小球藻生长的影响,并计算一定培养时间的半效应浓度,为实际生产提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用小球藻藻种购自武汉水生生物研究所。实验用生石灰(氧化钙含量80%)、漂白粉(有效氯含量35%)、硫酸氨、过磷酸钙、硫酸镁、碳酸氢钠、氯化钾、三氯化铁等试剂均为国产分析纯。土壤抽出液Ⅳ:取田园土壤1 kg,加水2 000 mL,搅拌均匀,浸泡,吸取上清液,煮沸消毒后使用。

1.2 实验方法

1.2.1 藻种的扩培 采用水生4号培养液。所用锥形瓶在电炉上加热,90℃维持5 min。按照培养液:藻种=4:1(V/V)的比例配制小球藻液。

1.2.2 浓度梯度的设置 用移液管吸取小球藻液到50 mL锥形瓶中,然后在小球藻液中加入生石灰溶液,使得生石灰的浓度梯度为0、5、10、20、40、80 mg/L。同样使得漂白粉的浓度梯度为0、0.25、0.5、1、2、4 mg/L。每种浓度梯度设置3个平行样。

1.2.3 生长情况的测定 用650 nm的吸光度值($OD_{650\ nm}$)表示小球藻的生长情况。把各个50 mL锥形瓶放入DG-2C多功能恒温箱培养,实验温度24℃,光照强度2 500 lx,每天24 h光照,每天定时摇动。用722N型分光光度计测定培养24 h、48 h和72 h的$OD_{650\ nm}$(阎海等,2001)。

1.2.4 半效应浓度(EC_{50})的测定 根据实验数据,采用直线内插法得出不同培养时间的半效应浓度(EC_{50})。

2 结果与分析

2.1 小球藻在生石灰和漂白粉培养液中的生长

2.1.1 小球藻在生石灰培养液中的生长情况 测得初始小球藻液$OD_{650\ nm}$为0.113,小球藻在含有不同浓度生石灰培养液中生长情况见表1。

表1 小球藻在生石灰培养液中的生长(OD_{650nm})

Tab. 1 Growth performance of *Chlorella vulgaris* in solutions with different concentration gradient of quicklime

生石灰浓度/mg·L^{-1} Concentration of quicklime	培养时间/h Culture time 24	48	72
0	0.116±0.001	0.124±0.002	0.163±0.013
5	0.104±0.016	0.077±0.006	0.116±0.002
10	0.066±0.004	0.054±0.017	0.080±0.021
20	0.061±0.001	0.044±0.000	0.074±0.006
40	0.054±0.007	0.043±0.003	0.064±0.003
80	0.036±0.002	0.034±0.002	0.059±0.001

从表1分析,当培养液中生石灰浓度分别为5、10、

收稿日期:2008-01-18

作者简介:王秀英,女,1975年生,汉族,山东烟台人,现为扬州大学动物科学与技术学院讲师,研究方向为水产动物营养与饲料科学、水产养殖技术等。E-mail:xywang2001@sohu.com

20、40和80 mg/L时，在72 h的培养时间内，均导致培养液$OD_{650\ nm}$不同程度的降低，即导致对小球藻生长的不同程度的抑制作用，并且随着培养液中生石灰浓度的升高，对小球藻生长的抑制作用增大。

2.1.2 小球藻在漂白粉培养液中的生长情况 测得初始小球藻液$OD_{650\ nm}$为0.113，小球藻在含有不同浓度漂白粉的培养液中生长情况见表2。

表2 小球藻在漂白粉培养液中的生长(OD_{650nm})

Tab. 2 Growth performance of *Chlorella vulgaris* in solutions with different concentration gradient of bleaching powder

漂白粉浓度/ $mg \cdot L^{-1}$ Concentration of bleaching powder	培养时间/h Culture time		
	24	48	72
0	0.135 ±0.007	0.161 ±0.007	0.208 ±0.013
0.25	0.115 ±0.002	0.114 ±0.024	0.143 ±0.007
0.5	0.087 ±0.004	0.093 ±0.014	0.128 ±0.006
1.0	0.075 ±0.002	0.081 ±0.003	0.099 ±0.001
2.0	0.072 ±0.002	0.076 ±0.002	0.090 ±0.017
4.0	0.020 ±0.005	0.024 ±0.004	0.047 ±0.0120

从表2分析，当培养液中漂白粉浓度分别为0.25、0.5、1、2、4 mg/L时，在72 h的培养时间内，均导致培养液$OD_{650\ nm}$不同程度的降低，即导致对小球藻生长的不同程度的抑制作用，并且随着培养液中漂白粉浓度的升高，对小球藻生长的抑制作用增大。

2.2 生石灰和漂白粉抑制小球藻生长的EC_{50}

半效应浓度(EC_{50})用直线内插法求出。直线内插法估算半效应浓度(EC_{50})计算公式为：

$$EC_{50} = C_1 + \frac{(C_2 - C_1)(50\% - P_1)}{P_2 - P_1}$$

C_1、C_2—死亡率接近50%的低端和高端的药物浓度。

P_1、P_2—死亡率接近50%的低端和高端的死亡率。

生石灰和漂白粉的各浓度抑制率计算：

$$抑制率 = \frac{A - B}{A} \times 100\%$$

A—未加生石灰或者漂白粉的培养液的光密度。

B—加生石灰或者漂白粉的培养液的光密度。

各浓度生石灰和漂白粉在24 h、48 h和72 h对小球藻的抑制率见表3、表4。

表3 生石灰对小球藻的抑制率

Tab. 3 Growth inhibition rate of *Chlorella vulgaris* in various quicklime solutions at 24h, 48h and 72h

浓度/ $mg \cdot L^{-1}$ Concentration	24 h		48 h		72 h	
	光密度 $OD_{650\ nm}$	抑制率/% Inhibition rate	光密度 $OD_{650\ nm}$	抑制率/% Inhibition rate	光密度 $OD_{650\ nm}$	抑制率/% Inhibition rate
0	0.116 ±0.001	0	0.124 ±0.002	0	0.163 ±0.013	0
5	0.104 ±0.013	10.335	0.077 ±0.006	39.903	0.116 ±0.002	28.834
10	0.066 ±0.004	43.103	0.054 ±0.017	49.452	0.080 ±0.021	50.920
20	0.061 ±0.001	47.413	0.044 ±0.000	56.516	0.074 ±0.006	54.601
40	0.054 ±0.007	53.448	0.043 ±0.001	65.323	0.064 ±0.003	60.736
80	0.036 ±0.002	68.996	0.034 ±0.002	72.581	0.059 ±0.001	63.804

表4 漂白粉对小球藻的抑制率

Tab. 4 Growth inhibition rate of *Chlorella vulgaris* in various bleaching powder solutions at 24h, 48h and 72h

浓度/ $mg \cdot L^{-1}$ Concentration	24 h		48 h		72 h	
	光密度 $OD_{650\ nm}$	抑制率/% Inhibition rate	光密度 $OD_{650\ nm}$	抑制率/% Inhibition rate	光密度 $OD_{650\ nm}$	抑制率/% Inhibition rate
0	0.135 ±0.007	0	0.161 ±0.007	0	0.208 ±0.013	0
0.25	0.115 ±0.002	14.815	0.114 ±0.024	29.193	0.143 ±0.001	31.250
0.5	0.087 ±0.004	35.556	0.093 ±0.014	42.236	0.128 ±0.006	38.462
1	0.075 ±0.002	44.444	0.081 ±0.003	49.689	0.099 ±0.001	52.404
2	0.072 ±0.002	46.667	0.076 ±0.002	52.795	0.090 ±0.017	56.731
4	0.020 ±0.005	85.185	0.024 ±0.004	85.093	0.047 ±0.012	77.404

根据直线内插法得出生石灰和漂白粉在不同培养时间下抑制小球藻生长的半效应浓度见表5。

3 讨论

袁春营等(2005)发现，在微囊藻培养液中分别添加20、30、40和45 mg/L的生石灰，会不同程度地促进微囊藻的生长。这个结果和本试验结果相反，这可能与所培养的藻的种类不同有关。本实验中生石灰对小球藻生长起着很大的抑制作用。

在本试验中，通过直线内插法得到，在24 h、48

h 和 72 h 生石灰抑制小球藻生长的半效应浓度(EC_{50})分别是 28.57、10.77 和 9.79 mg/L,漂白粉抑制小球藻生长的半效应浓度(EC_{50})分别是 2.17、1.10 和 0.91 mg/L。

表 5　生石灰和漂白粉抑制小球藻生长的 EC_{50}

Tab. 5　Median effect concentrations of quicklime and bleaching powder on the growth of *Chlorella vulgaris*

培养时间/h Culture time	生石灰 EC_{50}/ $mg \cdot L^{-1}$ EC_{50} of quicklime	漂白粉 EC_{50}/ $mg \cdot L^{-1}$ EC_{50} of bleaching powder
24	28.57	2.17
48	10.77	1.10
72	9.79	0.91

在生产实践中经常用生石灰和漂白粉消毒和预防鱼类疾病,而小球藻是很多水产动物的优良饵料,如果生石灰或漂白粉与小球藻同时存在于水体中时,就必须考虑药物对小球藻生长的抑制作用,而目前,在这 2 种常用消毒药物对小球藻生长的影响方面基本没有研究报道,因此,在生产实践中可以根据本试验所得出的生石灰和漂白粉的半效应浓度,在消毒养殖水体时参考使用,以估测所使用的生石灰和漂白粉浓度对小球藻生长的影响,以便及时对养殖水体中的小球藻进行补充。

在实际生产中,进行养殖过程中的日常消毒和疾病预防的生石灰使用浓度一般为 15 ~25 mg/L。本试验结果表明,在 24 h、48 h 和 72 h 生石灰抑制小球藻生长的半效应浓度(EC_{50})分别是 28.57、10.77 和 9.79 mg/L,所以,在养殖过程中,进行日常消毒和疾病预防所使用的生石灰浓度对小球藻生长有较明显的抑制作用,应在使用生石灰后及时对水体中的小球藻的量进行补充。进行养殖过程中的日常消毒和疾病预防的漂白粉的使用浓度一般为 10 mg/L。本试验结果表明,在 24 h、48 h 和 72 h 漂白粉抑制小球藻生长的半效应浓度(EC50)分别是 2.17、1.10 和 0.91 mg/L。另外,在生产应用中,生石灰和漂白粉都是多次遍洒,因此对小球藻的生长抑制作用很大,在药物使用的过程中需要更加注意补充小球藻或其他饵料来满足鱼类的需求。

参考文献:

阎海,王杏军,林毅雄,等. 2001. 铜、锌、锰抑制蛋白核小球藻生长的毒性效应[J]. 环境科学,(1):23 -26.

袁春营,崔青曼,程旭东. 2005. 硫酸铜、生石灰对微囊藻生长的影响[J]. 河北渔业,(5):9 -10.

(责任编辑　杨春艳)

Studies on the Effects of Quicklime and Bleaching Powder in Water Bodies on the Growth Inhibition of Chlorella

WANG Xiu-ying, ZHOU Jun-hui

(Animal Science and Technology College of Yangzhou University　225009,China)

Abstract:This article intends to study the effects of quicklime and bleaching powder in water bodies on the growth of *Chlorella*. Inoculated *Chlorella vulgaris* was cultured in the solutions which had different concentration gradient of quicklime or bleaching powder . The OD_{650nm} of the culture solutions were determined per 24 hours and continued 3 times. (The results indicated that both quicklime and bleaching powder in the culture solutions had inhibition effects on the growth of Chlorella vulgaris, and the inhibition effects were greater with the increase of concentration. 24 h - EC_{50}, 48h - EC_{50} and 72h - EC_{50} of quicklime were 28.57,10.77and 9.79 mg/L respectively, while of bleaching powder were 2.17,1.10 and 0.91 mg/L respectively.

Key words:*Chlorella vulgaris*;quicklime;bleaching powder;growth inhibition;median effect concentration (EC_{50})