

臭氧在卤虫卵孵化中的应用效果研究*

宫小明¹ 刘淇² 王群² 李健²

(¹ 青岛海洋大学海洋生命学院 266003)

(² 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071)

关键词 臭氧, 卤虫, 孵化率, 成活率, 杀菌效果

臭氧因具有强氧化性,可以起到灭菌、消毒、净化水质的作用,并且它在水中可迅速分解为氧气,不会造成对水体的污染^[1,3,9],被认为是一种绿色环保型的“消毒剂”,因而在水产养殖中的应用越来越广泛。以往人们的研究主要集中在臭氧对养殖鱼类的毒性及水体的杀菌效果等方面^[5,6,8],另有报道臭氧影响微藻中的脂肪酸和蛋白质的含量^[7]。有关臭氧对卤虫卵孵化率的影响仅见有孙广明等^[2]报道:利用臭氧处理过的水进行卤虫卵孵化,可使其孵化率提高10%以上。但有关卤虫卵孵化的最佳臭氧浓度、臭氧对卤虫无节幼体的成活率影响、臭氧对卤虫卵孵化水体中细菌的杀灭作用等方面均未见报道,因此作者就以上问题进行了初步研究,旨在讨论臭氧应用于卤虫卵孵化的技术指标,实现卤虫无节幼体供应的无菌化,为鱼、虾、蟹育苗生产的成功提供技术支持。

1 材料与方 法

1.1 材 料

实验用水取自青岛小麦岛黄海水产研究所实验基地沉淀砂滤海水,pH 8.0,盐度 31,温度 18~20.2℃。用韩国产射流式渔水器(臭氧发生器)制取臭氧水,臭氧浓度用美国产 942-094 型臭氧浓度自动分析仪进行测定。卤虫卵由滨州市无棣友发养殖公司生产,铁罐真空包装。

1.2 方 法

1.2.1 臭氧在海水中的衰减 经臭氧处理的海水 12 L,初始臭氧浓度分别是 1.03 mg/L 和 1.60 mg/L,置于 15 L 红色塑料桶中,光照为室内自然光,室温为 15~18℃,间隔不同时间取水样,测定臭氧浓度。

1.2.2 卤虫卵的孵化 在 250 ml 的烧杯中,放入 200~260 个卤虫卵,加入 150 ml 不同臭氧浓度的海水,每组设 5 个平行,置于生化培养箱孵化,24 h 后对孵化出的卤虫无节幼体和挂伞的卤虫无节幼体进行计数,用单因素方差分析进行统计分析。孵化温度

28~29℃,光照为 8 W 日光灯。

1.2.3 臭氧的灭菌效果 盛有卤虫卵和无节幼体的烧杯中加入不同浓度的臭氧水处理 30 min 后,取 1 ml 水样(无菌操作)进行 10 倍系列稀释,取 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³ 等 4 个稀释度的样品各 0.1 ml,接种 Zo Bell 2 216 E 海洋琼脂平板,用无菌玻璃棒涂布均匀,每个稀释度设 2~3 个平行,28℃培养,24 h 后观察,选择合适稀释度的平板(30~300 个菌落/平板)进行计数,取平均值,并根据稀释度计算水样中异养菌数。

1.2.4 臭氧对卤虫无节幼体成活率的影响 在 500 ml 的烧杯中加 30 ml 海水,每个烧杯放入 50 尾卤虫无节幼体,分别加入不同臭氧浓度的海水到 400 ml,24 h 和 48 h 后分别对成活卤虫计数,每个臭氧浓度组设 2 个平行,实验水温 20~21.5℃。

1.2.5 卤虫卵孵化率与挂伞率计算方法:

$$\text{卤虫卵孵化率}(\%) = [(X_1 + X_2) / X_3] \times 100,$$

$$\text{卤虫卵挂伞率}(\%) = (X_2 / X_3) \times 100,$$

X₁ 为孵化出的卤虫无节幼体数, X₂ 为挂伞的卤虫无节幼体数, X₃ 为放入的卤虫卵个数。

2 结 果

2.1 臭氧在海水中的衰减

从图 1 中的两条曲线可以看出:初始阶段臭氧浓度衰减较快,后期衰减相对较慢,即随着时间的延长,衰减速度变慢。曲线 I 从初始的浓度 1.6 mg/L 经过

* 农业科技跨越计划项目。

第一作者:宫小明,出生于 1976 年,硕士研究生,目前参加农业科技跨越计划项目研究。E-mail: gongxiaoming@yhoo.com

收稿日期:2001-07-18;修回日期:2002-03-18

109 min 衰减到 1.09 mg/L, 再从 1.09 mg/L 衰减到 0.54 mg/L, 所用时间为 636 min; 曲线 II 从初始的浓度 1.03 mg/L 衰减到 0.55 mg/L 所用时间为 400 min. 这两个基本相同臭氧浓度区间在海水中的衰减时间, 后者较前者少 200 min, 这是由于臭氧溶于水后, 迅速分解成单原子的氧(O)、羟基(OH)、过氧化物等, 这些物质比臭氧本身具有更强的氧化能力, 这些强氧化性的臭氧分解产物及臭氧与海水中的有机物、卤化物及氨

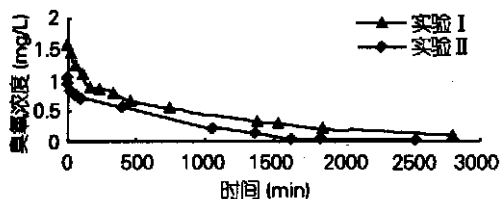


图 1 臭氧在海水中的衰减

Fig.1 The curve of ozone declining in seawater

氮等作用, 大大加速了臭氧的分解, 当这些物质与臭氧反应完后, 臭氧的衰减主要是自身的分解。

2.2 臭氧对卤虫孵化率的影响

从表 1 中可以看到, 臭氧浓度为 1.27 mg/L 以内, 随臭氧浓度的提高卤虫孵化率得到提高, 臭氧浓度超过此浓度则卤虫卵孵化率下降, 最高孵化率与对照相比, 提高 8.01%, 而挂伞率随臭氧浓度的提高出现下降的趋势。若将卤虫卵孵化率与挂伞率相减, 则在臭氧浓度 1.27 mg/L 以下, 臭氧处理组与对照相差更显著。以上结果说明, 臭氧处理海水有利于提高卤虫卵的孵化同步性, 或者说加速了卤虫卵的孵化,

表 1 不同臭氧浓度下卤虫卵孵化率与孵化挂伞率

Tab.1 Hatching rate of *Artemia salina* cysts (including cysts with shell) at different ozone concentration

臭氧浓度(mg/L)	卤虫卵孵化率(%)	孵化挂伞率(%)
0	57.4 ± 0.61	6.4 ± 0.04
0.42	60.0 ± 4.2	4.2** ± 0.36
0.87	61.2** ± 2.0	2.0** ± 0.1
1.27	62.0** ± 3.0	3.0** ± 0.17
1.82	56.2 ± 2.6	2.6** ± 1.84
2.22	34.4** ± 1.7	1.7** ± 1.18
3.36	0** ± 0	0** ± 0

** 表示 $P < 0.01$ 。

提高了卤虫卵在育苗生产中的应用效果。

2.3 臭氧对卤虫卵孵化水和无节幼体培养水中细菌的杀灭效果

从图 2 可以看出, 在臭氧浓度为 0 时, 卤虫卵孵化水中的细菌数大大高于用于培育无节幼体的水, 这是由于卤虫壳表面带有大量的细菌。随着臭氧浓度的增加, 细菌数量急剧下降, 这说明细菌对于臭氧非常敏感, 0.2 mg/L 左右的臭氧浓度即可达到 90% 以上的灭菌率, 0.5 mg/L 左右的臭氧浓度即可达到 100% 灭菌率。

2.4 臭氧处理海水对卤虫无节幼体成活率的影响

海水中不同臭氧浓度对卤虫无节幼体(I 期)成活率的影响结果见表 2。结果表明: 臭氧浓度低于 0.60 mg/L, 卤虫无节幼体(I 期)成活率在 24 h 达 100%, 48 h 最低 99%, 说明此浓度以下对卤虫无节幼体成活率无显著影响; 臭氧浓度在 0.73 mg/L 时, 在 24 h 成活率达 99%, 48 h 达 80%, 说明此浓度下, 如果

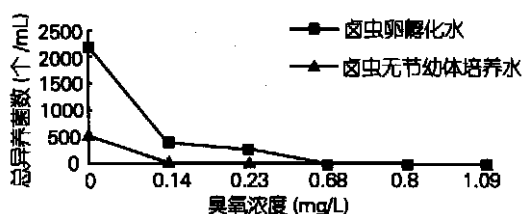


图 2 臭氧对卤虫卵孵化和无节幼体培养水中细菌的杀灭效果

Fig.2 Efficiency of ozone killing the bacteria in *Artemia salina* cysts and nauplii incubation water

作用时间超过 24 h, 对卤虫无节幼体(I 期)有一定的毒害作用; 当海水中臭氧浓度为 0.87 mg/L 以上时, 在 24h 成活率最高为 18%, 48 h 为 11%, 并且随海水中臭氧浓度的增加, 卤虫无节幼体(I 期)成活率逐渐下降, 且卤虫的趋光性明显较差, 表现出对卤虫无节幼体很强的毒害作用, 当臭氧浓度为 3.36 mg/L 时, 卤虫无节幼体在 24 h 和 48 h 的成活率均为 0。根据以上试验结果, 建议用臭氧对以卤虫为饲料的育苗池进行消毒或培育卤虫无节幼体时, 应将臭氧的浓度控制在 0.60 mg/L 以下为宜, 但若处理时间不超过 24 h, 浓度升高至 0.73 mg/L 亦可接受。

3 讨论

3.1 臭氧促进卤虫卵孵化的作用机理

臭氧对于卤虫孵化率提高的机理与 H_2O_2 有许多相似之处, 它们都能产生活性氧原子, 卤虫卵外壳是由亚铁血红蛋白组成的, 臭氧处理海水中的活性氧, 与亚铁血红蛋白反应, 从而使卤虫卵外壳变薄, 有利于卤虫卵破壳, 加速了卤虫的孵化速度; 同时卤

虫卵外壳变薄,使得某些能量低的卤虫卵由于卤虫无节幼体所需破壳的能量减少,在原有条件下不能破壳孵化的也能够孵化出,从而提高了孵化率^[10]。另外,活性氧原子还能催化卤虫胚胎发育过程中海藻糖转变成甘油和糖原的氧化还原过程,这一催化作用使含低能量的卵也能达到破壳期从而进一步发育成无节

幼体氧化成高价态的氧化物,比如它可以将水中的Br⁻氧化成BrO⁻,进一步氧化可以生成BrO₃⁻,这些氧化生成物对水产养殖动物都具有很强的毒性^[6]。在生产中用臭氧处理养殖水体后,经过一段时间的曝气,或者经过活性炭槽处理,可以有效地消除这些有毒的氧化生成物。目前在实际生产中,1 L水中大约要添加1 g左右的卤虫卵,经检测孵化水中的细菌数可以达到40 000个/ml。用臭氧发生器对卤虫卵孵化用水进行处理,先使臭氧浓度达到0.8~0.9 mg/L左右,然后投加卤虫卵,可以达到提高孵化率和灭菌的目的。

表2 臭氧对卤虫无节幼体成活率的影响

Tab.2 Survival rates of *Artemia salina* nauplii under different ozone concentration

臭氧浓度(mg/L)	24 h 存活率(%)	48 h 存活率(%)
0	100	100
0.12	100	100
0.21	100	100
0.34	100	100
0.43	100	100
0.60	100	99
0.73	99	80
0.87	18	11
1.00	12	5
1.23	7	5
1.56	6	0
2.22	1	0

幼体,达到提高孵化率的目的^[3];臭氧处理海水后,海水中的水分子得到了活化,增加了自由水的数量,有利于卤虫卵吸收水分,从而加快了卤虫卵孵化速度^[11];李元广^[4]研究认为:pH值、溶解氧、氨氮、亚硝态氮是决定轮虫、卤虫等饵料生物高密度养殖成功与否的关键。经臭氧处理后的海水,其氨氮、COD、水中的细菌总数等显著降低,溶解氧增加^[1,2,8],这些因素都有利于提高卤虫的孵化率。试验表明:在一定的浓度范围内,随着臭氧浓度的增加,孵化率增加;但臭氧浓度过高时(超过2.22 mg/L),卤虫卵的孵化率反而下降,这是因为高浓度的臭氧海水所含的活性氧在除去卤虫卵的外壳后,又与卤虫卵内的胚胎作用,伤害了卤虫卵的胚胎,使其死亡而无法孵出。

3.2 臭氧在卤虫孵化生产中的应用

臭氧是一种强氧化剂,它可以将海水中的氯、溴

参考文献

- 1 于兰桂等.臭氧消毒技术简介,黄渤海海洋,1991,9(1): 61~65
- 2 孙广明等.臭氧水处理原理及在水产养殖中的应用,内陆水产,1998,4:5~7
- 3 杨娜等.中国卤虫卵孵化特性的研究,水产学报,1989,18(4):285~297
- 4 李元广等.轮虫培养过程中生长及环境变化特征分析,水产养殖,2000,10(3):13~26
- 5 Graham L. Bullock ozonation of a recirculating rainbow trout culture system I. Effect on bacterial gill disease and heterotrophic bacteria, *Aquaculture*, 1997, 158:43~55
- 6 Leonard B. Richardson Lethal and sublethal exposure and recovery effects of ozone-produced oxidants on adult white perch (*MORONE AMERICANA GMELIN*), *Water Res.*, 1983,17:205~213
- 7 Robert. Decline in energy reserves of *Chlorella sorokiniana* upon exposure to ozone, *Plant Physiol*,1984,76:700~704
- 8 Steven T., Summerfelt. Ozonation of a recirculating rainbow trout culture system II. Effect on microscreen filtration and water quality, *Aquaculture*, 1997,158:57~67
- 9 Sherri A. Tyrnell Inactivation of bacterial and viral indicators in secondary sewage effluents, using chlorine and ozone, *Water Res.*, 1995,29(11):2483~2490
- 10 Suantika G. The use of ozone in a high-density recirculation system for rotifers, *Aquaculture*, 2001, 201:35~49
- 11 Williams P. M. Ozonation of seawater: Preliminary observations on the oxidation of bromide, chloride and organic carbon, *Water Research*, 1978,12:385~388

STUDY ON THE APPLICATION OF OZONE IN INCUBATION OF *Artemia salina* CYSTS

GONG Xiaoming¹ LIU Q² WANG Qun² LI Jian²

(¹ Department of Marine Life, Ocean University of Qingdao, 266003)

(² Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Qingdao, 266071)

Received: Jul., 18, 2001

Key Words: Ozone, *Artemia salina*, Hatching rate, Survival rate, Disinfecting effect

Abstract

This study investigated the effect of different ozone concentration on the hatching rate of *Artemia salina* cysts and the survival rate of hatched nauplii. In the same time we have done some researches on the disinfect effect of ozone. The result indicates that low ozone concentration can increase the hatching rate of *Artemia salina* cysts, the concentration about 0.87 mg/L is the best level for hatching, and the safe concentration to hatch *Artemia salina* nauplius is under 0.60 mg/L. According to the curve of ozone declining in seawater, we suggest that using the concentration 0.8 ~ 0.9 mg/L to treat the incubation water should increase the rates of hatch *Artemia salina* cysts and be safe to *Artemia salina* nauplii.

(本文编辑:刘珊珊)