

# 聚六亚甲基双胍对凡纳滨对虾不同生长阶段及 饵料藻类的安全性研究

王 群, 刘 淇, 李 峰, 李 健

(中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

**摘 要** 采用药浴方式,研究了一种新型消毒剂——聚六亚甲基双胍对凡纳滨对虾受精卵、无节幼体、幼虾、成虾的毒性及饵料藻类的影响。结果表明,聚六亚甲基双胍对凡纳滨对虾幼虾 24、48 h 的  $LC_{50}$  为  $64.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $31.13\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,安全浓度  $Sc$  为  $2.20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;聚六亚甲基双胍对凡纳滨对虾成虾 24、48 h 的  $LC_{50}$  为  $66.17\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $32.16\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,安全浓度  $Sc$  为  $2.28\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,为了保证凡纳滨对虾的安全性,聚六亚甲基双胍的用量应控制在  $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  之内。聚六亚甲基双胍在  $125\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度内对受精卵的孵化率无明显影响, $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度以内对无节幼体的变态率无明显影响。聚六亚甲基双胍对球等鞭金藻和亚心形扁藻表现出了明显的剂量-效应关系,其对球等鞭金藻和亚心形扁藻的生长不产生抑制的最高浓度为  $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;聚六亚甲基双胍对球等鞭金藻 48、96、144 h 的  $EC_{50}$  为  $27.01$ 、 $34.95\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $33.14\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,亚心形扁藻为  $34.65$ 、 $28.73\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $20.57\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,聚六亚甲基双胍对两种藻类的安全浓度分别  $3.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $2.9\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,表明聚六亚甲基双胍对亚心形扁藻的影响更明显。

**关键词** 凡纳滨对虾 聚六亚甲基双胍 饵料藻类 安全性

**中图分类号** X592 **文献标志码** A **文章编号** 1672-2043(2009)03-0597-05

## Security on Different Growth Stages of *Litopenaeus vannamei* and Feeding Algae of Polyhexamethylene Biguanide (PHMB)

WANG Qun, LIU Qi, LI Feng, LI Jian

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

**Abstract** The security of polyhexamethylene biguanide (PHMB) on different growth stages of *Litopenaeus vannamei* and feeding algae were investigated. The results showed cumulative mortality of juvenile and adult *Litopenaeus vannamei* increased with increasing concentration of PHMB. 24 h and 48 h median lethal concentrations ( $LC_{50}$ ) of PHMB on juvenile shrimp of *Litopenaeus vannamei* were  $64.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $31.13\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , and security concentration ( $Sc$ ) was  $2.20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . 24 h and 48 h median lethal concentrations ( $LC_{50}$ ) of PHMB on adult shrimp of *Litopenaeus vannamei* were  $66.17\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $32.16\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , and security concentration ( $Sc$ ) was  $2.28\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . In order to guarantee security on culturing *Litopenaeus vannamei*, the using amount of PHMB should below  $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Hatching and metamorphosis test showed hatching rate of control group was 87%, and hatching rate of test group was the range of 79%~92%. There was no significant influence on hatching rate of zygote when the concentration of PHMB below  $125\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , and there was no significant influence on metamorphosis rate of nauplius when the concentration of PHMB below  $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . With the increase of PHMB concentration, the growth inhibition rate of *Isochrysis galbana* and *Platymonas subcordiformis* was increasingly apparent. There was an excellent relationship between dose and effect of PHMB on *Isochrysis galbana* and *Platymonas subcordiformis*, and the sensitivity of *Platymonas subcordiformis* to PHMB is higher than *Isochrysis galbana*. The highest concentration of no significant influence of PHMB on *Isochrysis galbana* and *Platymonas subcordiformis* was  $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . 48 h, 96 h and 144 h  $EC_{50}$  of PHMB on *Isochrysis galbana* were  $27.01$ ,  $34.95\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $33.14\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , and the corresponding concentrations of *Platymonas subcordiformis* were  $34.65$ ,  $28.73\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $20.57\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . According to the classification of aquatic organisms toxicity, the toxicity of PHMB to *Isochrysis galbana* and *Platymonas subcordiformis* belonged to moderate toxicity.

**Keywords** *Litopenaeus vannamei*; polyhexamethylene biguanide (PHMB); feeding algae; security

收稿日期 2008-05-07

基金项目 国家科技支撑计划“工程化养殖高效生产体系构建技术与开发”(2006BAD09A03) 公益性行业科研专项“对虾养殖管理信息系统研究与建立”(nyhyzx07-042)

作者简介 王 群 (1973—),女,山东蓬莱人,博士,副研究员,从事水产药理学研究。E-mail wangqun@ysfri.ac.cn

通讯作者 李 健 E-mail lijian@ysfri.ac.cn

近年来,含氯消毒剂在防治对虾细菌性疾病方面发挥了巨大的作用<sup>[1-3]</sup>。但这些含氯消毒剂存在溶解性差、刺激性强和安全性不好等副作用,使用时其使用效果往往受水体中酸碱度和有机物的影响,聚六亚甲基双胍 (polyhexamethylene biguanide, PHMB) 属于阳离子表面活性剂,无色无味、易溶于水、性质稳定,杀菌过程中不发生强氧化反应,通过细胞内产生沉淀作用及细胞内磷的数量上升,阻碍细胞壁与核酸的合成<sup>[4-5]</sup>,由于其独特的结构和性能,在食品行业、环境消毒等方面得到了应用<sup>[6-7]</sup>。近年来,在水产养殖行业也得到一定程度的应用<sup>[8-9]</sup>。

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 又名南美白对虾,具有生长快、抗病力强等优点,1988 年从美国夏威夷引进我国,1992 年人工繁殖获得成功,目前占我国对虾养殖产量的 70% 左右。本文采用药浴方式研究聚六亚甲基双胍对凡纳滨对虾受精卵、无节幼体、幼虾、成虾的安全性及饵料藻类的影响,评价聚六亚甲基双胍对对虾的毒性效应及生态毒理学效应,为药物合理安全使用提供必要的参考数据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

聚六亚甲基双胍 (含量 25%) 由青岛克大克生化科技有限公司出品,试验中的数据已换算为纯的聚六亚甲基双胍表示。

球等鞭金藻、亚心形扁藻由中国水产科学研究院黄海水产研究所提供。

凡纳滨对虾及其受精卵、无节幼体由青岛卓越水产养殖股份公司提供。

凡纳滨对虾幼虾和成虾购自青岛南山市场。

### 1.2 聚六亚甲基双胍对凡纳滨对虾幼虾和成虾的急性毒性试验

采用半静水法药浴方式,24 h 更换 100% 试液,试验均设平行重复。凡纳滨对虾幼虾体长 4.6~5.5 cm,成虾体长 11.3~12.7 cm,海水 pH8.0,盐度 31,水温 25.1~26.2 °C,动物数量 30 尾·组<sup>-1</sup>,设平行重复,试验过程中不充气。

试验中观察记录 24、48 h 死亡数。毒性试验结果用半数致死浓度 (LC<sub>50</sub>) 和安全浓度 (Sc) 表示;半数致死浓度 (LC<sub>50</sub>) 采用移动平均角法计算;安全浓度 (Sc) 采用下式计算:

$$Sc = \frac{48 \text{ hLC}_{50} \times 0.3}{(24 \text{ hLC}_{50} / 48 \text{ hLC}_{50})^2}$$

### 1.3 聚六亚甲基双胍对凡纳滨对虾受精卵和无节幼体毒性试验

#### 1.3.1 凡纳滨对虾受精卵孵化率的影响试验

将受精卵放入配制好的不同浓度聚六亚甲基双胍溶液中浸泡一定时间后,用 100 目筛绢滤掉消毒剂溶液,然后用干净的海水充分冲洗去除残留在受精卵表面的消毒剂,再放入盛有 300 mL 孵化水的烧杯中孵化,每个烧杯放入 30 粒受精卵,每组 90 粒。试验水温 27~28 °C, pH 8.0, 盐度 31。试验过程中不充气,不换水,24 h 后对孵化出的无节幼体进行计数。采用  $\chi^2$  检验比较试验组和对照组受精卵孵化率的显著性差异。

#### 1.3.2 凡纳滨对虾无节幼体变态率的影响试验

试验在 500 mL 玻璃烧杯中进行,将凡纳滨对虾无节幼体分别放入盛有已配制好的 400 mL 不同浓度聚六亚甲基双胍溶液的烧杯中,观察记录 40 h 各组无节幼体变为蚤状幼体的情况。每个烧杯中放入 50 尾无节幼体,每组 150 尾。试验水温 28~30 °C, pH 8.0, 盐度 31。试验过程中不充气,不换水。

#### 1.4 聚六亚甲基双胍对饵料藻类的影响试验

根据预试验结果设计正式试验中聚六亚甲基双胍的浓度,试验浓度梯度按等对数间距设置,试验设空白对照组,每组设 3 个平行重复。将处于指数生长期的藻种用藻类培养液调整为适宜浓度,分装在 250 mL 经干热灭菌的锥形瓶中 (200 mL·瓶<sup>-1</sup>),初始浓度为  $(3.08 \pm 0.14) \times 10^4$  个·mL<sup>-1</sup>,然后加入聚六亚甲基双胍系列标准液,使藻液中的聚六亚甲基双胍的浓度为 0、5、10、20、40、80、160 mg·L<sup>-1</sup>,每个浓度设 3 个平行重复,混匀后自然光 24 h 恒温 (20±1) °C 培养,每日振荡 3~4 次。每间隔 48 h 用显微镜观察藻细胞状态,并按帕森斯等<sup>[10]</sup>的方法采集样本,在血球计数板上计数,取算数平均值。

用生长面积法<sup>[11]</sup>计算 96 h EC<sub>50</sub>:

$$I_A = (A_c - A) / A_c \times 100\%$$

$$A = (N_1 - N_0) / 2 \times t_1 + (N_1 + N_2 - 2N_0) / 2 \times (t_2 - t_1) + \dots + (N_{n-1} + N_n - 2N_0) / 2 \times (t_n - t_{n-1})$$

式中  $I_A$  为生长抑制百分率;  $A_c$  为空白组生长曲线以下面积;  $A_t$  为受试浓度生长曲线以下面积;  $A$  为生长曲线下面积;  $N_n$  为  $t_n$  时刻细胞密度;  $t_n$  为试验开始后第  $n$  次计数时间。

以  $I_A$  为纵坐标和浓度对数为横坐标作图,  $I_A = 50\%$  所对应的浓度即为 EC<sub>50</sub>。

安全浓度 (C)  $LC_s = 96 \text{ h EC}_{50} \times 0.1$

## 2 试验结果

### 2.1 聚六亚甲基双胍对凡纳滨对虾的急性毒性

聚六亚甲基双胍对凡纳滨对虾幼虾和成虾 24、48 h 的死亡率见表 1~表 2。凡纳滨对虾幼虾和成虾的死亡率随聚六亚甲基双胍暴露浓度的增加而增加,随暴露时间的延长而增加。

### 2.2 聚六亚甲基双胍对凡纳滨对虾受精卵和无节幼体毒性

聚六亚甲基双胍对凡纳滨对虾受精卵孵化率和无节幼体变态率的影响如表 3 和表 4。对照组的孵化率为 87%,试验组的孵化率为 79%~92%,与对照组对虾受精卵孵化率差异不显著 ( $P>0.05$ ),表明聚六亚甲基双胍 125 mg·L<sup>-1</sup> 浓度以内处理凡纳滨对虾受精卵 10~30 min 对其孵化率无明显影响。当聚六亚甲基双胍的浓度为 1.0 mg·L<sup>-1</sup>, 凡纳滨对虾幼体的变态率为 81%,与对照组之间差异显著 ( $P<0.05$ );当聚六亚甲基双胍的浓度为 0.5 mg·L<sup>-1</sup> 时,凡纳滨对虾幼体的变态率为 95%,与对照组之间差异不显著 ( $P>0.05$ )。

### 2.3 聚六亚甲基双胍对饵料藻类影响试验

#### 2.3.1 聚六亚甲基双胍对球等鞭金藻生长抑制试验

不同浓度聚六亚甲基双胍对球等鞭金藻的生长抑制试验结果见表 5。随着聚六亚甲基双胍质量浓度的升高,球等鞭金藻的生长受抑制愈加明显,当聚六亚甲基双胍的质量浓度为 80 mg·L<sup>-1</sup> 时,球等鞭金藻的生长完全受到抑制并最终导致其死亡,抑制率为 100%。低质量浓度组 (5 mg·L<sup>-1</sup>) 的细胞生长不受抑制,48 h 的高质量浓度组 (40 mg·L<sup>-1</sup>) 的抑制率比低质量浓度组 (10 mg·L<sup>-1</sup>) 抑制率增加了 2 倍左右,96 h 和 144 h 的高质量浓度组 (40 mg·L<sup>-1</sup>) 的抑制率比低质量浓度组 (10 mg·L<sup>-1</sup>) 增加了 3 倍左右。低质量浓度组 (5、10、20 mg·L<sup>-1</sup>) 随着暴露时间的延长,细胞生长受抑制不明显,高质量浓度组 (40 mg·L<sup>-1</sup>) 随着暴露时间的延长,细胞生长受抑制越明显,其 48、96、144 h 细胞的生长抑制率分别为 57.0%、81.8%、94.4%。聚六亚

表 4 聚六亚甲基双胍对凡纳滨对虾无节幼体变态率的影响

Table 4 Effect of PHMB on metamorphosis rate of nauplius

| 药物浓度/mg·L <sup>-1</sup><br>concentration | 0   | 0.125 | 0.25 | 0.5 | 1.0  | 2.0 | 4.0 | 8.0 |
|------------------------------------------|-----|-------|------|-----|------|-----|-----|-----|
| 变态率/%<br>metamorphosis rate              | 100 | 100   | 100  | 95  | 81** | 0** | 0** | 0** |

注:每个试验组与空白对照组进行显著性检验,表中变态率右上角的“\*\*”表示  $\chi^2$  检验差异极显著 ( $P<0.01$ )。

表 1 聚六亚甲基双胍对凡纳滨对虾幼虾的急性毒性试验结果

Table 1 Toxicity of PHMB on juvenile shrimp of *Penaeus vannamei*

| 药物浓度/mg·L <sup>-1</sup> , concentration | 0 | 2.25 | 6.75 | 20.25 | 60.75 | 182.25 | 546.75 | 1 640.25 |
|-----------------------------------------|---|------|------|-------|-------|--------|--------|----------|
| 24 h 死亡率/%, cumulative mortality        | 0 | 0    | 0    | 10    | 18.3  | 56.7   | 71.2   | 100      |
| 48 h 死亡率/%, cumulative mortality        | 0 | 0    | 10   | 36.7  | 63.3  | 100    | 100    | 100      |

注 24 h LC<sub>50</sub> 54.1 mg·L<sup>-1</sup>, 95%置信范围为 48.09~83.02 mg·L<sup>-1</sup>; 48 h LC<sub>50</sub> 31.13 mg·L<sup>-1</sup>, 95%置信范围为 25.12~38.37 mg·L<sup>-1</sup>; Sc (安全浓度) 2.20 mg·L<sup>-1</sup>。

表 2 聚六亚甲基双胍对凡纳滨对虾成虾的急性毒性试验结果

Table 2 Toxicity of PHMB on adult shrimp of *Penaeus vannamei*

| 药物浓度/mg·L <sup>-1</sup> , concentration | 0 | 2.25 | 6.75 | 20.25 | 60.75 | 182.25 | 546.75 | 1 640.25 |
|-----------------------------------------|---|------|------|-------|-------|--------|--------|----------|
| 24 h 死亡率/%, cumulative mortality        | 0 | 0    | 5    | 15    | 23.3  | 53.3   | 66.7   | 100      |
| 48 h 死亡率/%, cumulative mortality        | 0 | 0    | 8.3  | 28.3  | 70    | 100    | 100    | 100      |

注 24 h LC<sub>50</sub> 56.17 mg·L<sup>-1</sup>, 95%置信范围为 48.99~86.69 mg·L<sup>-1</sup>; 48 h LC<sub>50</sub> 32.16 mg·L<sup>-1</sup>, 95%置信范围为 26.13~39.43 mg·L<sup>-1</sup>; Sc (安全浓度): 2.28 mg·L<sup>-1</sup>。

表 3 聚六亚甲基双胍对凡纳滨对虾受精卵孵化率的影响

Table 3 Effect of PHMB on hatching rate of zygote

| 处理时间 time<br>/min | 聚六亚甲基双胍浓度/mg·L <sup>-1</sup> , PHMB concentration |          |          |          |          |          |
|-------------------|---------------------------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
|                   | 0                                                 | 7.75     | 15.5     | 31.25    | 62.5     | 125      |
| 10                | 87%±2%                                            | 92%±2.5% | 83%±2.1% | 88%±2.6% | 85%±1.5% | 84%±1.2% |
| 20                | 87%±2%                                            | 89%±1.5% | 86%±1.8% | 85%±2.7% | 80%±1.7% | 79%±2.1% |
| 30                | 87%±2%                                            | 83%±2.2% | 81%±1.7% | 83%±2.3% | 82%±2.4% | 81%±2.2% |



表 5 聚六亚甲基双胍对球等鞭金藻生长抑制试验结果

Table 5 Result of the growth inhibition trial of PHMB to *Isochrysis galbana*

| 药物浓度 $\rho/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$<br>concentration | 生长抑制率 $I_A/\%$ growth inhibition rate |          |           |
|----------------------------------------------------------|---------------------------------------|----------|-----------|
|                                                          | $I_{48}$                              | $I_{96}$ | $I_{144}$ |
| 5                                                        | 0.9                                   | 0.7      | 0         |
| 10                                                       | 21.9                                  | 22.0     | 23.9      |
| 20                                                       | 38.3                                  | 37.7     | 39.1      |
| 40                                                       | 57.0                                  | 81.8     | 94.4      |
| 80                                                       | 100                                   | 100      | 100       |

注 球等鞭金藻起始浓度  $(22.33\pm 1.53)\times 10^4$  个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

甲基双胍对球等鞭金藻的 48、96、144 h 的  $\text{EC}_{50}$  分别为 27.01、34.95  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和 33.14  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 其质量安全浓度为 3.5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 按照水生生物毒性分级<sup>[12]</sup>, 聚六亚甲基双胍对球等鞭金藻属于中等毒性。

### 2.3.2 聚六亚甲基双胍对亚心形扁藻生长抑制试验

不同浓度聚六亚甲基双胍对亚心形扁藻的生长抑制试验结果见表 6。随着聚六亚甲基双胍质量浓度的升高, 亚心形扁藻的生长受抑制愈加明显, 当聚六亚甲基双胍的质量浓度为 80  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 亚心形扁藻的生长完全受到抑制并最终导致其死亡, 抑制率为 100%。5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度组的细胞生长略受抑制, 10、20  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  质量浓度组的生长抑制率随时间的延长而略有降低, 而 40  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  质量浓度组的生长抑制率不随时间的延长而变化, 表明随时间的延长, 亚心形扁藻对低质量浓度组的聚六亚甲基双胍的暴露可以逐步适应。聚六亚甲基双胍质量浓度达到 10、20、40  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 其对亚心形扁藻 48、96、144 h 的生长平均抑制率为 25%、52% 和 80% 左右。聚六亚甲基双胍对亚心形扁藻 48、96、144 h 的  $\text{EC}_{50}$  分别为 34.65、28.73、20.57  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 其质量安全浓度为 2.9  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 按照水生生物毒性分

表 6 聚六亚甲基双胍对亚心形扁藻生长抑制试验结果

Table 6 Result of the growth inhibition trial of PHMB to *Platymonas subcordiformis*

| 药物浓度 $\rho/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$<br>concentration | 生长抑制率 $I_A/\%$ growth inhibition rate |          |           |
|----------------------------------------------------------|---------------------------------------|----------|-----------|
|                                                          | $I_{48}$                              | $I_{96}$ | $I_{144}$ |
| 5                                                        | 2.7                                   | 1.7      | 1.6       |
| 10                                                       | 27.1                                  | 26.3     | 25.4      |
| 20                                                       | 56.6                                  | 48.9     | 50.1      |
| 40                                                       | 80.2                                  | 79.3     | 80.4      |
| 80                                                       | 100                                   | 100      | 100       |
| 160                                                      | 100                                   | 100      | 100       |

注 亚心形扁藻起始浓度  $(3.08\pm 0.14)\times 10^4$  个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

级<sup>[12]</sup>, 聚六亚甲基双胍对球等鞭金藻属于中等毒性。

## 3 讨论

### 3.1 PHMB 对凡纳滨对虾的安全性评价

由急性毒性的结果可知在聚六亚甲基双胍浓度为 2.20  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和 2.28  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  对凡纳滨对虾幼虾和成虾是安全的。聚六亚甲基双胍在 125  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度内对受精卵的孵化率没有明显的影响, 但对孵化出的无节幼体毒性较大, 浓度超过 0.5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  就有明显的毒性效应, 聚六亚甲基双胍对对虾受精卵、无节幼体、幼虾、成虾的毒性为: 无节幼体>幼虾>成虾>受精卵, 本试验的结果与秦志华<sup>[8]</sup>报道的聚六亚甲基双胍对中国对虾及张玮<sup>[9]</sup>报道的聚六亚甲基双胍对日本对虾受精卵和无节幼体的试验结果相似, 但从试验数据来看, 中国对虾对聚六亚甲基双胍更敏感一些, 其次为日本对虾, 凡纳滨对虾最不敏感。关于 PHMB 对其他水产动物的毒性研究已有一些相关报道, 张玮<sup>[9]</sup>报道了聚六亚甲基双胍对大菱鲆和刺参 24、48 h  $\text{LC}_{50}$  值分别为 295.02、179.91  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和 8.74、6.67  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 本试验聚六亚甲基双胍对凡纳滨对虾幼虾和成虾 24、48 h  $\text{LC}_{50}$  分别为 64.1、31.1  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和 66.17、32.16  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 可见 PHMB 对对虾的毒性介于鱼和刺参之间。由于聚六亚甲基双胍属于表面活性剂类消毒剂, 稳定性强, 相对于含氯消毒剂在水中维持有效浓度的时间长, 因此, 48 h 对试验动物产生的半致死浓度比 24 h 更低, 而含氯消毒剂不稳定, 在水中易分解失效, 因而不同时间段对实验动物的半致死浓度差别不大, 如李海燕等<sup>[13]</sup>研究了二氯异氰尿酸对红剑鱼 (*Xiphophorus helleri*) 的急性毒性, 其 24、48 h 的半致死浓度分别为 4.62、4.13  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 温茹淑等<sup>[14]</sup>研究强氯精和溴氯海因对草鱼 24、48 h 的  $\text{LC}_{50}$  分别为 2.33、2.0  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和 21.09、19.07  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

### 3.2 PHMB 对饵料藻类的影响

藻类作为水生态系统的初级生产者, 对水生态系统的平衡和稳定起着极其重要的作用, 利用藻类生长抑制试验可以在短时间内准确得到被测毒物的半数抑制浓度  $\text{EC}_{50}$ , 在了解化学物质对藻类的生态毒理学效应方面有着重要的意义。本试验聚六亚甲基双胍对球等鞭金藻和亚心形扁藻 96 h 的  $\text{EC}_{50}$  分别为 34.95 和 28.73  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 低质量浓度组 (5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 的细胞生长不受抑制, 而刘青等<sup>[15]</sup>研究表明 1  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  以上的有效氯对新月菱形藻、扁藻、球等鞭金藻、湛江等鞭金藻 4 种单胞藻种群的增长产生了抑制, 聂湘平等<sup>[16]</sup>研究三氯异氰尿酸对蛋白核小球藻 96 h 的  $\text{EC}_{50}$  为 0.31  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,

可见含氯消毒剂对藻类的影响比聚六亚甲基双胍大。本试验聚六亚甲基双胍对球等鞭金藻和亚心形扁藻两种藻类毒性表现出了明显的剂量-效应关系,亚心形扁藻对聚六亚甲基双胍的敏感性更高一些。在  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  质量浓度处理组中,随着时间的延长并没有增加聚六亚甲基双胍对两种藻细胞的负荷; $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的球等鞭金藻组随着时间的延长,抑制程度增强,表现出明显的时间-效应关系。高质量浓度处理组 ( $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 对两种藻类的抑制率均为 100%,可能因为聚六亚甲基双胍质量浓度超过了藻细胞生长的耐受极限,以至藻细胞生长缓慢至死亡,肉眼观察到藻液的颜色随着聚六亚甲基双胍质量浓度的增加而逐渐变淡,从显微镜中观察到藻细胞个体大小差异大,逐渐失去活动能力。

#### 4 结论

聚六亚甲基双胍在浓度  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  以内不会对凡纳滨对虾无节幼体造成影响,浓度在  $0.75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  不会对凡纳滨幼体的成活率造成影响,对受精卵的安全性更高, $125 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的浓度处理受精卵不会影响其孵化率。聚六亚甲基双胍对球等鞭金藻 96 h  $\text{EC}_{50}$  为  $34.95 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,其质量安全浓度为  $3.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,对亚心形扁藻的 96 h  $\text{EC}_{50}$  为  $28.73 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,其质量安全浓度为  $2.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,聚六亚甲基双胍对亚心形扁藻的影响更明显,按照水生生物毒性分级,聚六亚甲基双胍对两种藻类的毒性属于中等毒性。PHMB 在其常规使用剂量下对养殖水体中的单胞藻不会造成直接的抑制效应。

#### 参考文献:

- [1] 杨先乐,蔡完其. 上海市场渔用含氯消毒剂状况调查[J]. 水产养殖, 2000 (2): 34-35.  
YANG X L, CAI W Q. Status investigation of fishery chlorine-containing disinfectant in Shanghai[J]. *Aquaculture*, 2000 (2): 34-35.
- [2] 邢华. 二溴海因、溴氯海因在水产病害防治上的应用试验[J]. 中国水产, 2000 (11): 82-83.  
XING H. Application test of 1, 3-dibromo-5, 5-dimethylhydantoin and Bromine Chlorine Hydantoin in aquaculture disease prevention[J]. *Chinese Fishery*, 2000 (11): 82-83.
- [3] 阮宜兵,肖灿章. 新型高效低毒水产消毒剂溴氯海因[J]. 渔业致富指南, 2001 (2): 49.  
YUAN Y B, XIAO C Z. A new fishery disinfectant -Bromine Chlorine Hydantoin[J]. *Guide of Fishery for Becoming Rich*, 2001 (2): 49.
- [4] Khunkitti W, Hann A C, Lloyd D, et al. X-ray microanalysis of chlorine and phosphorus content in biguanide-treated *Acanthamoeba castellanii*[J]. *J Appl Microbiol*, 1999 (86): 453-459.
- [5] Wallace H M. Polyamines and their role in human disease-an introduction[J]. *Biochem Soc Trans*, 2003 (31): 354-355.
- [6] Kusnetsov J M, Tulkki A I, Ahonen H E, et al. Efficacy of three prevention strategies against legionella in cooling water systems[J]. *J Appl Microbiol*, 1997 (82): 763-768.
- [7] Messick C R, Pendland S L, Moshirfar M, et al. In vitro activity of poly-hexamethylene biguanide (PHMB) against fungal isolates associated with infective keratitis[J]. *J Antimicrob Chemother*, 1999 (44): 297-298.
- [8] 秦志华,李健,刘淇. 聚六亚甲基双胍对中国对虾受精卵和无节幼体的影响及其杀菌效果研究[J]. 海洋水产研究, 2006, 27 (5): 39-43.  
QIN Z H, LI J, LIU Q. Effect of polyhexamethylene biguanide (PHMB) on zygote and nauplii of *Fenneropenaeus chinensis* and germicidal efficacy[J]. *Marine Fisheries Research*, 2006, 27 (5): 39-43.
- [9] 张玮,于锋,朱汉泉. 聚六亚甲基胍杀灭致病弧菌效果及其对海产养殖动物毒性[J]. 中国消毒学杂志, 2007, 24 (6): 499-502.  
ZHANG W, YU F, ZHU H Q. Efficacy of polyhexamethylene guanidine in killing Pathogenic *Vibrio* and its toxicity to marine breeding animals[J]. *Chinese Journal Disinfection*, 2007, 24 (6): 499-502.
- [10] 帕森斯 T R, 前田吉明, 兰莉 C M. 海水分析的化学和生物学方法[M]. 厦门: 厦门大学出版社, 1991.  
Parsons T R, Qiantian J M, LanLi C M. Seawater analysis means of chemical and biologic methods[M]. Xiamen: Xiamen University Press, 1991.
- [11] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第4版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 715-721.  
Ministry of Environmental Protection of the People's Republic of China. Water and exhausted water monitoring analysis method[M]. The forth edition. Beijing: China Environmental Science Press, 2002: 715-721.
- [12] 国家环境保护总局. 水生生物监测手册[M]. 南京: 东南大学出版社, 1993: 192-202.  
Ministry of Environmental Protection of the People's Republic of China. Handbook of aquatic superintendent[M]. Nanjing: Southeast University Press, 1993: 192-202.
- [13] 李海燕. 溴氯海因对鱼类的急性毒性试验及治疗效果[J]. 广州大学学报(自然科学版), 2006, 15 (3): 26-30.  
LI Hai-yan. The acute toxicity test of Brom ochlorohydantoin to fishes and the curative efficacy[J]. *Journal of Guangzhou University (Natural Science Edition)*, 2006, 15 (3): 26-30.
- [14] 温茹淑, 潘观华. 强氯精和溴氯海因对草鱼鱼苗的急性毒性研究[J]. 佛山科学技术学院学报(自然科学版), 2006, 24 (3): 51-64.  
WEN Ru-shu, PAN Guan-hua. Acute toxicity of Strong Chlorine and Bromine Chlorine Hydantoin to fries of *Ctenopharyngodon idyllus*[J]. *Journal of Foshan University (Natural Science Edition)*, 2006, 24 (3): 51-64.
- [15] 刘青, 王玉善, 赵文. 有效氯对四种单胞藻种群增长的影响[J]. 大连水产学院学报, 2002, 17 (2): 120-125.  
LIU Qing, WANG Yu-shan, ZHAO Wen. The influence of effective chlorine on growth of 4 species of unicellular algae[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2002, 17 (2): 120-125.
- [16] 聂湘平, 王翔, 陈菊芳, 等. 三氯异氰尿酸与盐酸环丙沙星对蛋白核小球藻的毒性效应[J]. 环境科学学报, 2007, 27 (10): 1694-1701.  
NIE X P, WANG X, CHEN J F, et al. Toxic effects of trichloroisocyanuric acid and ciprofloxacin hydrochloride on a freshwater alga, *Chlorella pyrenoidosa*[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2007, 27 (10): 1694-1701.