

温度对铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 和鱼腥藻 (*Anabaena* sp.) 生长及胞外有机物产生的影响*

刘菲菲^{1,2}, 冯慕华^{1**}, 尚丽霞^{1,2}, 何延召^{1,2}, 李文朝¹

(1: 中国科学院南京地理与湖泊研究所湖泊与环境国家重点实验室, 南京 210008)

(2: 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 以巢湖优势种铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 和鱼腥藻 (*Anabaena* sp.) 为研究对象, 研究不同温度 (35、25 和 10℃) 对这两种藻生长特性和胞外有机物产生的影响。结果表明, 温度对铜绿微囊藻和鱼腥藻的藻细胞密度、碱性磷酸酶活性和胞外有机物浓度影响显著。25℃ 是铜绿微囊藻和鱼腥藻最适宜的生长温度, 最高细胞密度分别达到 3.12×10^7 cells/ml 和 2.03×10^7 cells/ml。不同温度下两种藻的碱性磷酸酶活性特征, 证实了高温对鱼腥藻生长的抑制和低温对铜绿微囊藻生长的抑制。胞外有机物释放总量受蓝藻生物量和单位细胞有机物释放速率的影响。铜绿微囊藻的溶解性有机碳和胞外总多糖释放量在 25℃ 最高, 最大值分别为 49.28 和 38.46 mg/L; 而鱼腥藻在 35℃ 时释放量最高, 最大值分别为 45.82 和 40.60 mg/L; 10℃ 条件抑制了两种藻的生长及胞外有机物的释放。鱼腥藻胞外多糖含量在 35℃ 培养条件下最高, 而铜绿微囊藻在 10℃ 条件下最高, 说明不利的生长条件会促进蓝藻胞外多糖的分泌。三维荧光图谱分析结果表明, 铜绿微囊藻和鱼腥藻胞外有机物以类蛋白质和类腐殖酸为主, 温度主要影响藻细胞胞外有机物浓度, 而对有机物种类组成没有影响。

关键词: 铜绿微囊藻; 鱼腥藻; 碱性磷酸酶活性; 胞外多糖; 温度; 巢湖

Effects of temperature on the growth and generation of extracellular organic matter of *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena* sp.

LIU Feifei^{1,2}, FENG Muhua¹, SHANG Lixia^{1,2}, HE Yanzhao^{1,2} & LI Wenchao¹

(1: State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, P. R. China)

(2: University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, P. R. China)

Abstract: We investigated the growth characteristics and dynamic variations of extracellular organic matter (EOM) under the temperature of 35, 25 and 10°C using *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena* sp., the two dominant species in Lake Chaohu, and the targeting cyanobacteria in the present study. The results showed that culture temperature played an important role in cell density, alkaline phosphatase activity (APA), and the release of EOM. The most adaptive temperature for *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena* sp. was 25°C, with the maximum cell densities of 3.12×10^7 and 2.03×10^7 cells/ml, respectively. The characteristics of APA under different temperature conditions proved that the inhibition effect of high temperature on the growth of *Microcystis aeruginosa* and that of low temperature on the growth of *Anabaena* sp. Total amount of EOM was determined by cyanobacterial biomass and the release rate of unicellular EOM. The highest amounts of dissolved organic carbon and extracellular polysaccharide substances (EPS) for *Anabaena* sp. were 49.28 and 38.46 mg/L at 25°C, and 45.82 and 40.60 mg/L at 35°C, respectively, whereas low temperature of 10°C restricted the release of EOM of the two studied cyanobacteria. The results of highest amount of unicellular EPS at 35°C for *Anabaena* sp. and at 10°C for *Microcystis aeruginosa* suggested that adverse growth conditions promoted

* 国家水体污染控制与治理科技重大专项项目 (2011ZX07103-004-02, 2012ZX07103-005) 和中国科学院南京地理与湖泊研究所学科交叉与前沿项目 (NIGLAS2012135013) 联合资助。2013-11-07 收稿; 2014-01-14 收修改稿。刘菲菲 (1988~), 女, 硕士研究生; E-mail: feifei1845@126.com.

** 通信作者; E-mail: mhfang@niglas.ac.cn.

the generation of EPS. Excitation-Emission Matrice of EOM showed that main EOM of *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena* sp. were protein-like and humic acid-like organic substances. Furthermore, the concentrations of organic matters rather than the types of organic matters were influenced by temperature.

Keywords: *Microcystis aeruginosa*; *Anabaena* sp.; alkaline phosphatase activity; extracellular polysaccharide; temperature; Lake Chaohu

近年来,湖泊富营养化已成为我国面临的主要环境问题,湖泊富营养化引起的蓝藻水华严重影响湖泊生态系统的健康,进而对周边居民的生产和生活造成巨大影响,其中较突出的是危害人们的饮用水安全.天然有机物在自来水管的氯化及氧化等水处理过程中会产生有害的消毒副产物,如三卤甲烷和卤乙酸等非含氮类消毒副产物^[1].以往研究发现,饮用水源中存在的藻类有机物是重要的消毒副产物前驱物质^[2].此外,水体中蓝藻释放的有机氮,也可能在自来水生产过程中形成毒性更高的卤乙氰等含氮消毒副产物^[3].

水体环境因子(如营养盐、温度、光照等)对藻类有机物的释放有重要影响^[4,6].在以往的研究中,学者们主要关注营养盐、pH 等因素对藻类有机物释放的影响,而对温度的影响研究较少.温度是影响蓝藻生长的重要环境因子,能影响藻细胞的酶活性及生长代谢速率,蓝藻最适生长温度为 25 ~ 30℃^[7].不同温度条件下,蓝藻快速繁殖或衰亡过程中释放的有机物的种类和释放量存在差异,从而影响消毒副产物的种类和产量,在不同季节对饮用水安全构成不同的威胁.因此,研究温度对蓝藻有机物的释放影响具有重要的环境意义.

巢湖是巢湖市和周边集镇居民生活和生产的唯一水源.但近年来,巢湖蓝藻水华频繁发生(夏、秋季以铜绿微囊藻为主,冬、春季以鱼腥藻为主),导致巢湖市不时出现自来水供水危机.而蓝藻聚积腐烂分解,藻源性有机物大量释放,更加重了水体污染,威胁饮用水安全.因此本研究选择巢湖优势藻种铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*, FACHB-912)和鱼腥藻(*Anabaena* sp., FACHB-709)为研究对象,通过不同温度下的室内培养,分析不同温度条件对两种藻生长特性的影响,探讨其生长过程中胞外有机物的变化特征及其受温度影响的变化规律,为深入研究巢湖蓝藻水华对饮用水安全的影响奠定基础.

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用的蓝藻为铜绿微囊藻和鱼腥藻,购自中国科学院武汉水生生物研究所.培养条件为:温度 25℃,光照 2000 lx,光暗比 12 h : 12 h,培养基用经过改良的 BG-11 培养基^[8].2 种藻均培养至对数生长期作为实验藻种.

1.2 实验方法

在 5 L 锥形瓶中加入 3 L 经过灭菌消毒的 BG-11 培养基,以 $5.00 \times 10^5 \pm 0.06 \times 10^5$ cells/ml 的初始藻密度接入纯培养的铜绿微囊藻和鱼腥藻.根据巢湖蓝藻水华发生期的实际水温变化范围将环境温度设为 10、25 和 35℃,每天定时搅动 3 次.培养周期开始后,第 0、3、7、14、21、28、35、42、49 d 取一定量的藻细胞溶液进行分析.取样过程均在无菌操作台进行.

1.3 分析方法

1.3.1 藻细胞密度 实验开始后,每 3 d 取样 1 次,按一定的稀释倍数逐级稀释,在显微镜下计数,得到相应的藻细胞密度,绘制藻生长曲线.

1.3.2 碱性磷酸酶活性的测定 采用 Gao 等^[9]的方法,在试管中加入 2 ml 水样,并加入 1 ml Tris-HCl 缓冲溶液(pH 8.4),摇匀后加入 2.0 ml 对硝基苯磷酸二钠(p-NPP, Sigma 公司)溶液,30℃ 黑暗培养 6 h,水解产生稳定的黄色对硝基苯酚(PNP).反应结束后,410 nm 处测定吸光度(岛津 UV-2550 分光光度计),并计算 PNP 的产生速率,作为碱性磷酸酶活性(APA)的指标.

1.3.3 蓝藻胞外多糖的测定 参考 Yang 等^[10]的方法,将胞外多糖(EPS)分为胞被多糖(bEPS)和胞外溶解性多糖(sEPS).取 15 ml 藻液 10000 转/min、4℃ 离心 15 min,分离上清液和藻细胞,收集上清液用于测定胞外溶解性多糖.藻细胞加蒸馏水,调节 pH 至 10,45℃ 水浴 4 h,离心,上清液用于测定胞被多糖.2 次收集

的上清液经 0.45 μm 滤膜过滤,经透析冻干浓缩,采用苯酚硫酸比色法测定多糖^[11].

1.3.4 溶解性有机碳含量的测定 藻液在 10000 转/min、4℃ 条件下离心 15 min,上清液经 GF/F 膜过滤,采用总有机碳测定仪(岛津 TOC5000A)测定溶解性有机碳(DOC)含量.

1.3.5 三维荧光光谱 藻液经 10000 转/min 离心 15 min,上清液经 GF/F 膜过滤,采用荧光分光光度计(日立 F-7000)测定滤液的三维荧光光谱,激发和发射夹缝宽度为 5 nm,激发波长为 200~450 nm,间隔为 5 nm;发射波长 250~600 nm,以 1 nm 间隔得到荧光光谱,减去超纯水三维荧光光谱以校正水的拉曼散射,同时用 0.01 mg/L 硫酸奎宁校正^[12].

1.3.6 比增长速率的计算 比增长速率计算公式为^[13]:

$$\mu = (\ln X_n - \ln X_{n-1}) / (t_n - t_{n-1}) \quad (1)$$

式中, X_n 为时间 t_n 对应的藻细胞浓度(cells/ml), X_{n-1} 为时间 t_{n-1} 对应的藻细胞浓度(cells/ml), μ 为比增长速率(d^{-1}).

1.3.7 DOC、bEPS 和 sEPS 释放速率的计算 释放速率的计算公式为:

$$V_Y = (Y_n - Y_{n-1}) / (t_n - t_{n-1}) \quad (2)$$

式中, Y_n 为时间 t_n 对应的 DOC、bEPS 或 sEPS 浓度($\mu\text{g}/10^7$ cells), Y_{n-1} 为时间 t_{n-1} 对应的 DOC、bEPS 或 sEPS 浓度($\mu\text{g}/10^7$ cells), V_Y 为 DOC、单位细胞 bEPS 或 sEPS 释放速率($\mu\text{g}/(\text{d} \cdot 10^7$ cells)).

2 结果和讨论

2.1 温度对铜绿微囊藻和鱼腥藻生长的影响

温度对铜绿微囊藻和鱼腥藻生长影响的总体趋势相似.在 25 和 35℃ 条件下,2 种藻均呈“S”型生长曲线,显示了典型的生长周期.根据蓝藻在不同时期内生长繁殖的特点,将其划分为适应期、对数生长期、稳定期和衰亡期.相比之下,10℃ 条件下 2 种藻生长缓慢甚至出现停滞,没有呈现“S”型生长曲线特征.25℃ 培养温度下,铜绿微囊藻的适应期为 3 d,对数生长期和稳定期均为 20 d;而鱼腥藻对数生长期和稳定期均为 15 d(图 1).35℃ 培养条件下,2 种藻的对数生长期比 25℃ 略短,分别为 16 和 10 d;而适应期和稳定期,2 种温度下生长特征的差异不明显.

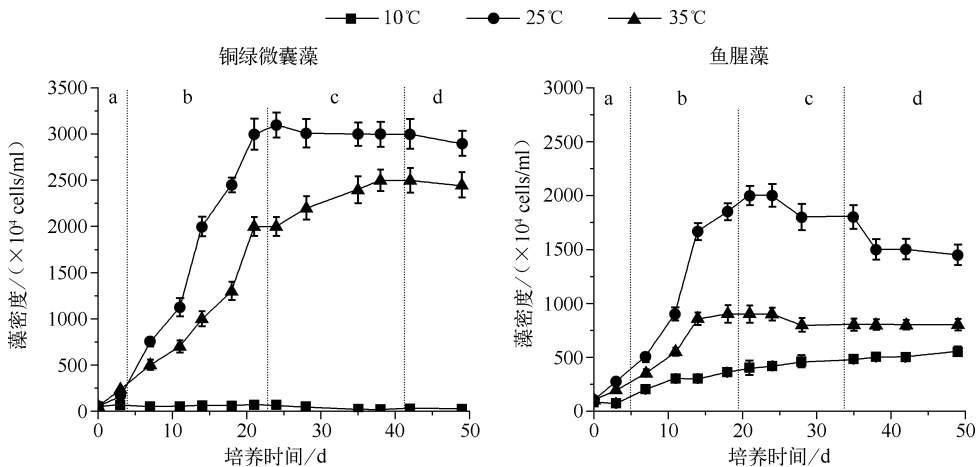


图 1 不同温度条件下铜绿微囊藻及鱼腥藻的生长曲线

(a: 适应期; b: 对数生长期; c: 稳定期; d: 衰亡期)

Fig. 1 Growth curves of *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena* sp. under different temperature conditions)

(a: lag phase; b: exponential phase; c: stationary phase; d: decline phase)

在 25℃ 条件下铜绿微囊藻和鱼腥藻的生长速率分别高于 35 和 10℃ 条件下的生长速率,最大细胞密度分别达到 3.12×10^7 和 2.03×10^7 cells/ml(图 1). 但 35 和 10℃ 培养条件对 2 种藻的抑制程度有差异. 35℃ 高温条件对铜绿微囊藻的抑制作用较小,最大细胞密度约为 25℃ 时的 80%;而对鱼腥藻的抑制作用较大,最大细胞密度仅为 25℃ 时的 50%. 在 10℃ 低温条件下,铜绿微囊藻的生长基本处于停滞状态,而鱼腥藻保持缓慢生长状态,最大细胞密度达 5.45×10^6 cells/ml. 铜绿微囊藻在 10、25 和 35℃ 培养条件下的比增长速率分别为 0.002、0.140 和 0.102 d^{-1} ,鱼腥藻分别为 0.093、0.110 和 0.085 d^{-1} (表 1). 35℃ 条件下,铜绿微囊藻生物量和比增长速率均比鱼腥藻高,表明铜绿微囊藻耐受高温的能力更强;而在 10℃ 条件下,铜绿微囊藻生物量和比增长速率接近 0,鱼腥藻仍保持较高的比增长速率,说明铜绿微囊藻耐低温的能力较弱. 2 种藻对不同温度条件的响应,也解释了巢湖在夏、秋季优势种为铜绿微囊藻,在冬、春季则为鱼腥藻.

培养过程中藻液的颜色变化显著. 铜绿微囊藻在 35℃ 培养条件中后期呈黄绿色,25℃ 下呈深绿色,10℃ 下呈浅绿色;鱼腥藻在 25℃ 呈墨绿色,10℃ 下略显发黄,35℃ 条件下明显发黄. 这与连续高温时巢湖湖湾口出现蓝藻发黄的现象一致. 藻液的颜色变化说明 25℃ 更适合蓝藻生长.

表 1 铜绿微囊藻及鱼腥藻的比增长速率、DOC 和胞外多糖释放速率

Tab. 1 Specific growth rate, release rates of DOC and extracellular polysaccharide of *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena* sp.

温度	生长曲线	铜绿微囊藻				鱼腥藻			
		μ/d^{-1}	$V/(\mu g/(d \cdot 10^7 \text{ cells}))$			μ/d^{-1}	$V/(\mu g/(d \cdot 10^7 \text{ cells}))$		
			DOC	bEPS	sEPS		DOC	bEPS	sEPS
10℃	对数生长期	0.002	0.051	0.019	-0.034	0.093	-0.019	0.028	-0.138
	稳定期	—	1.201	-0.001	0.063	—	0.198	0.715	-0.003
	衰亡期	—	3.723	0.046	-0.070	—	-0.001	0.077	0.060
25℃	对数生长期	0.140	0.117	-0.100	-0.015	0.110	0.084	-0.155	0.023
	稳定期	—	0.261	0.172	0.047	—	0.363	0.716	0.138
	衰亡期	—	1.070	0.282	0.010	—	0.670	0.177	0.038
35℃	对数生长期	0.102	0.061	-0.096	-0.080	0.085	0.239	0.350	0.253
	稳定期	—	0.178	0.000	0.022	—	0.843	1.330	0.623
	衰亡期	—	0.587	0.553	0.015	—	2.486	0.581	0.159

2.2 温度对碱性磷酸酶活性的影响

蓝藻水华发生过程中,APA 是重要环境指示因子^[14],因此本文通过分析不同温度下蓝藻培养液中 APA 的变化规律,反映蓝藻对环境变化的应激能力. 在 25℃ 培养条件下,2 种藻的 APA 值均最高;此外,35℃ 条件下铜绿微囊藻的 APA 值高于 10℃ 下,鱼腥藻恰好相反. 在整个培养周期,2 种藻 APA 值呈上升趋势,并且在衰亡期仍保持较高活性,这与碱性磷酸酶的稳定性^[14]以及生产者的生物量有关. 为了更好地了解温度对酶活性的影响,用酶的特异性活性,即单位生物量所表现的活性来表征酶活性,因其校正了由生物量的增加引起的活性增长,故能从实质上反映酶的内在催化效率. 2 种藻的特异性 APA 表明(图 2),铜绿微囊藻的 APA 值远低于鱼腥藻. 10℃ 条件下铜绿微囊藻的最大特异性 APA 值为 0.10 $\text{nmol}/(\text{min} \cdot 10^7 \text{ cells})$,其它条件下 APA 值均低于 0.04 $\text{nmol}/(\text{min} \cdot 10^7 \text{ cells})$. 而 10℃ 条件下鱼腥藻的最大特异性 APA 值达到了 0.98 $\text{nmol}/(\text{min} \cdot 10^7 \text{ cells})$,25 和 35℃ 条件下最大 APA 值也达到了 0.30 $\text{nmol}/(\text{min} \cdot 10^7 \text{ cells})$. 这与孔繁翔等^[15]的研究结果相似,此结果可能是由于不同藻种 APA 的反应能力存在差别. 低温条件下藻细胞密度太低,导致计算出在 10℃ 培养条件下 2 种藻的特异性 APA 值高于 25 和 35℃ 条件下. 铜绿微囊藻在 25 和 35℃ 的特异性 APA 值差异较小,分别为 0.023 和 0.019 $\text{nmol}/(\text{min} \cdot 10^7 \text{ cells})$,而鱼腥藻在 35℃ 条件下的特异性 APA 值(0.075 $\text{nmol}/(\text{min} \cdot 10^7 \text{ cells})$)远低于 25℃ 条件下(0.180 $\text{nmol}/(\text{min} \cdot 10^7 \text{ cells})$),说明高温抑制了鱼腥藻细胞生长代谢过程中碱性磷酸酶等有关酶的活性,而对铜绿微囊藻的影响较小,从而导致高温条件下鱼腥藻生长代谢受到影响.

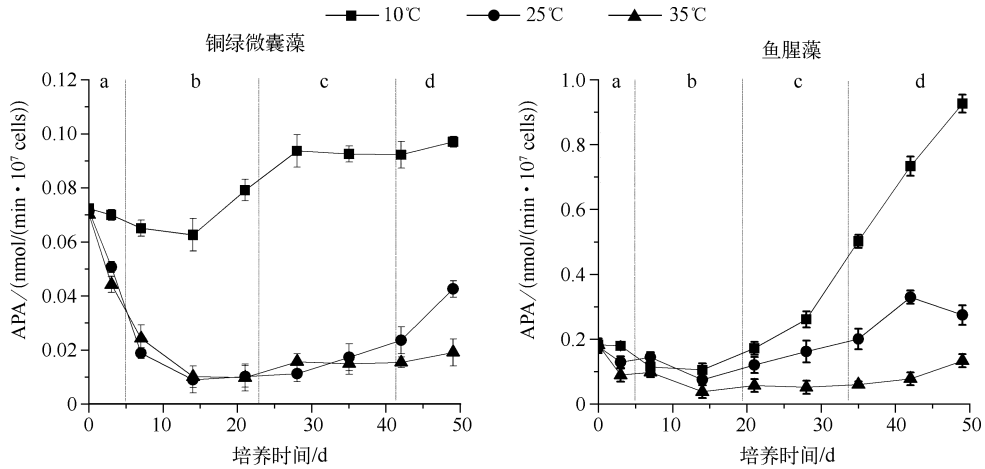


图2 不同温度条件下铜绿微囊藻及鱼腥藻悬液中特异性碱性磷酸酶活性
(a:适应期; b:对数生长期; c:稳定期; d:衰亡期)

Fig. 2 Specific alkaline phosphatase activity of *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena* sp. under different temperature conditions
(a: lag phase; b: exponential phase; c: stationary phase; d: decline phase)

2.3 温度对胞外有机物释放量的影响

在富营养化水体中,藻类及藻源性有机物是可溶性有机物(DOM)的重要来源.自来水厂混凝、沉淀、过滤等工艺不能有效去除原水中天然有机物特别是可溶性有机物^[16],并且藻源性可溶性有机物在氯化氧化过程中将生成消毒副产物^[2].溶解性有机碳(DOC)是表征DOM的一个重要指标,且与消毒副产物的生成呈正相关^[17].因此本文以DOC为指标,分析不同温度培养条件下铜绿微囊藻和鱼腥藻胞外有机物的释放特征,结果如图3所示.培养过程中2种藻的单位细胞DOC释放量以对数生长期中期为界,均表现出先减小后增大的趋势.原因是在培养初期,2种藻刚适应新的培养环境,大量吸收培养基中新的营养物质(BG-11培养基中DOC含量约有4.52 mg/L),而释放到细胞外的有机物较少,从而导致DOC含量减小.随着培养时间的延长,DOC含量逐渐升高,这与Pivokonsky等^[18]对蓝藻胞外DOC释放规律的研究结果较为一致.不同温度条件下,2种藻胞外有机物的释放趋势差异显著.在25℃条件下铜绿微囊藻的单位细胞DOC释放量略高于35℃下,最大值分别达15.43和9.12 $\mu\text{g}/10^7\text{ cells}$.而10℃条件下铜绿微囊藻单位细胞DOC释放量明显高于25和35℃下,最大值达到42.36 $\mu\text{g}/10^7\text{ cells}$,表明10℃低温对铜绿微囊藻产生了不利影响.与铜绿微囊藻相比较,鱼腥藻培养体系中DOC含量对温度的响应最显著的区别是35℃培养条件下的单位细胞DOC释放量明显高于25℃下.进入衰亡期之后35℃条件下单位细胞DOC释放量急剧增加,最大值51.62 $\mu\text{g}/10^7\text{ cells}$ 是25℃条件下(16.24 $\mu\text{g}/10^7\text{ cells}$)的3倍,且DOC释放速率达到2.486 $\mu\text{g}/(\text{d} \cdot 10^7\text{ cells})$,明显高于25℃(0.670 $\mu\text{g}/(\text{d} \cdot 10^7\text{ cells})$)下(表1),表明35℃高温对鱼腥藻的生长产生抑制作用.10℃低温条件下,鱼腥藻代谢产生的单位细胞DOC浓度基本稳定在2.34 $\mu\text{g}/10^7\text{ cells}$.不同温度条件下DOC总量也不同.铜绿微囊藻释放的DOC总量大小顺序为25℃ > 35℃ > 10℃,而鱼腥藻没有表现出这一特征.鱼腥藻在25℃下的生物量最高,但在35℃条件下的DOC总量最高,25和35℃条件下的DOC浓度最大值分别达28.07和45.82 mg/L.

2.4 温度对胞外多糖的影响

EPS是藻源性有机碳的重要组成成分,在吸附营养物质、物质能量交换、维持群落稳定等方面有重要作用^[19-20],对蓝藻生长和水华形成具有促进作用.自然水体中,当生存环境恶劣时,蓝藻分泌多糖,细胞壁表面的胞外多糖层变厚,sEPS和bEPS的含量显著增加,并能导致某些种类藻的团聚^[10].本文通过分析不同温度条件下蓝藻sEPS和bEPS浓度变化,以期揭示藻源性有机碳的形成机制.

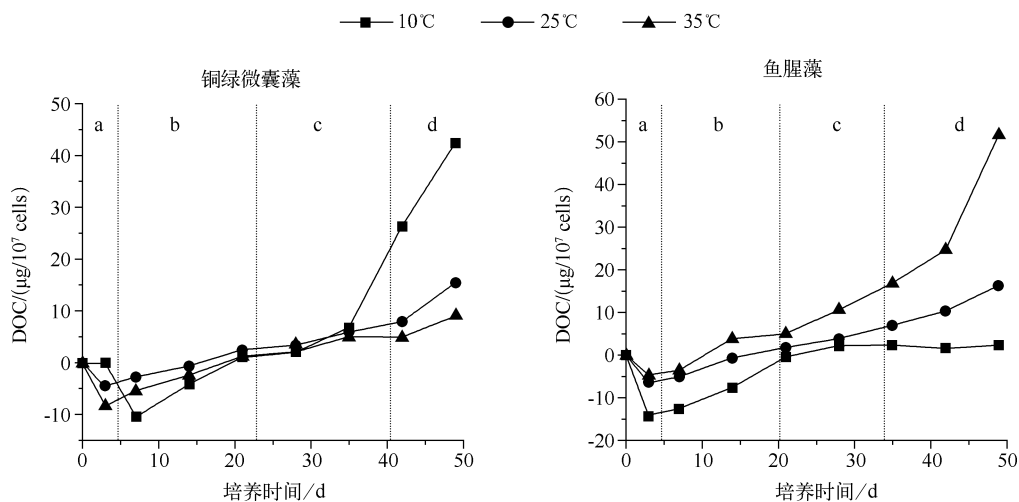


图3 不同温度条件下铜绿微囊藻及鱼腥藻单位细胞胞外溶解性有机碳释放量变化
(a:适应期; b:对数生长期; c:稳定期; d:衰亡期)

Fig. 3 Dynamic variations of unit cell extracellular dissolved organic carbon generated by *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena* sp. under different temperature conditions
(a: lag phase; b: exponential phase; c: stationary phase; d: decline phase)

不同温度条件下,2种藻的单位细胞EPS变化趋势不同,具有种属特异性;并且2种藻bEPS浓度均大于sEPS(图4)。铜绿微囊藻在10℃下的单位细胞sEPS与bEPS均最高,释放浓度基本稳定在4.107和12.435 $\mu\text{g}/10^7$ cells。25和35℃条件下,铜绿微囊藻单位细胞EPS含量相近,在对数生长期明显下降,释放速率均为负值;在稳定期和衰亡期铜绿微囊藻单位细胞EPS逐渐上升,释放速率也显著增加,单位bEPS释放速率衰亡期大于稳定期,而单位细胞sEPS释放速率与之相反,可能是因为蓝藻不同生长周期胞外多糖的形成机制不同。与铜绿微囊藻不同,鱼腥藻在35℃条件下单位细胞sEPS与bEPS释放量最高,最大值分别达到19.58和38.83 $\mu\text{g}/10^7$ cells,且对数期和稳定期的释放速率高于衰亡期。而在10℃和25℃条件下,鱼腥藻的单位细胞sEPS变化不显著,基本维持在4.018 $\mu\text{g}/10^7$ cells;单位细胞bEPS稳定期呈上升趋势,释放速率分别为0.715和0.716 $\mu\text{g}/(\text{d} \cdot 10^7 \text{ cells})$,最大含量分别为22.071和16.881 $\mu\text{g}/10^7$ cells。鱼腥藻单位细胞EPS含量在35℃下最高,而铜绿微囊藻在10℃下最高,说明蓝藻在生长不利的情况下单位细胞EPS产量较大。这可能是因为恶劣环境促使蓝藻胞外多糖大量分泌,作为胁迫条件下的一种保护机制。

不同温度条件下蓝藻密度和单位细胞EPS释放速率不同,造成EPS总量不同。铜绿微囊藻的sEPS和bEPS总量对温度的响应与生物量变化趋势一致,25℃条件下sEPS和bEPS总量最高(分别为6.35和32.11 mg/L),其次为35℃下(分别为5.10和28.53 mg/L),10℃条件下最低(分别为0.25和0.63 mg/L)。鱼腥藻释放的sEPS总量在35℃条件下最高,达到15.67 mg/L,分别是25和10℃的1.14和6.85倍;鱼腥藻释放的bEPS总量在25和35℃条件下相近,分别为25.32和24.93 mg/L,10℃下bEPS含量较低,为11.04 mg/L。总体来看,鱼腥藻EPS总量大于铜绿微囊藻,尤其低温10℃条件下高出近15倍。2种藻在25和35℃条件下,胞外多糖总量均较高,说明中高温条件对蓝藻生长和胞外多糖的释放具有促进作用。有研究表明,夏季太湖梅梁湾表层水体中蓝藻EPS含量约为15 mg/L^[21],虽比室内中高温培养条件下的含量低,但远高于非水华期。巢湖蓝藻水华常发生在连续高温条件下,水华蓝藻中铜绿微囊藻是优势种,高温条件下能大量分泌藻多糖形成藻团,促进蓝藻水华形成,从而对水安全造成严重威胁;而在冬、春季节,巢湖水体以鱼腥藻占优势,其低温条件下释放的多糖总量对水安全的威胁也不容忽视。

2.5 温度对蓝藻胞外有机物荧光特性的影响

三维荧光光谱法(EEMs)是鉴于水体DOM在激发波长下产生荧光,通过测定其不同激发波长下的发射

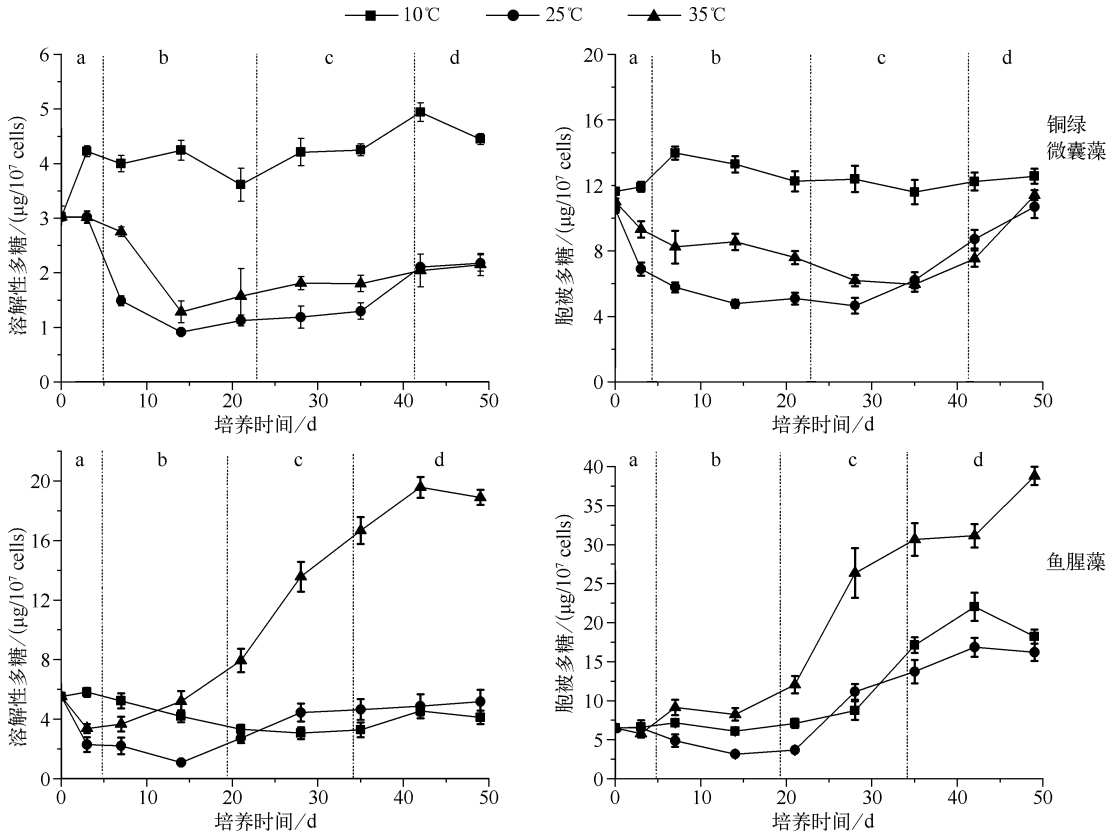


图4 不同温度条件下铜绿微囊藻及鱼腥藻单位细胞溶解性多糖和胞被多糖含量变化
(a:适应期; b:对数生长期; c:稳定期; d:衰亡期)

Fig. 4 Dynamic variations of the contents of unit cell soluble extracellular polysaccharide and bound extracellular polysaccharide of *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena* sp. under different temperature conditions
(a: lag phase; b: exponential phase; c: stationary phase; d: decline phase)

波长,可分析水体中发荧光有机物的化学组成、性质和来源^[22],因此对水环境安全具有重要意义.不同温度条件下2种藻胞外溶解性有机物三维荧光光谱图如图5所示.结果发现,2种藻胞外溶解性有机物都存在两种荧光峰类型,包括1个类蛋白荧光峰(T峰, $Ex/Em = 280\text{ nm}/330\text{ nm}$)、2个类腐殖酸荧光峰(A峰, $Ex/Em = 270\text{ nm}/450\text{ nm}$; C峰, $Ex/Em = 350\text{ nm}/430\text{ nm}$).铜绿微囊藻胞外有机物的类蛋白T峰荧光强度明显高于类腐殖酸类荧光A峰和C峰,而鱼腥藻的T峰和C峰荧光强度差别较小,类腐殖酸A峰荧光强度明显较低.10℃条件下,2种藻3个荧光峰增长缓慢;而25和35℃条件下,3个荧光峰强度增加明显.在3种温度条件下,随着培养时间的延长,藻类胞外有机物中类蛋白质和类腐殖酸物质浓度随着DOC含量的增加而增加,但是有机物的类型不变.对于铜绿微囊藻而言,类蛋白荧光T峰与DOC的相关性非常显著,而鱼腥藻的类蛋白荧光T峰和类腐殖酸C峰与DOC的相关性都非常显著.腐殖酸、富里酸被认为是形成三卤甲烷和卤乙酸等消毒副产物的主要前驱物,而Fang等^[3]对氯化前后蓝藻有机物的三维荧光图谱进行对比,发现氯化过程中T荧光峰区域荧光强度降低较快,当继续延长反应时间,A和C荧光峰区域荧光强度也有较小幅度的减小,说明蓝藻代谢的大多数有机物可以成为消毒副产物的前驱物质.在蓝藻生长的最适温度及高温条件下,铜绿微囊藻和鱼腥藻的胞外类蛋白质和类腐殖酸类物质明显增加,将对饮用水安全构成威胁.

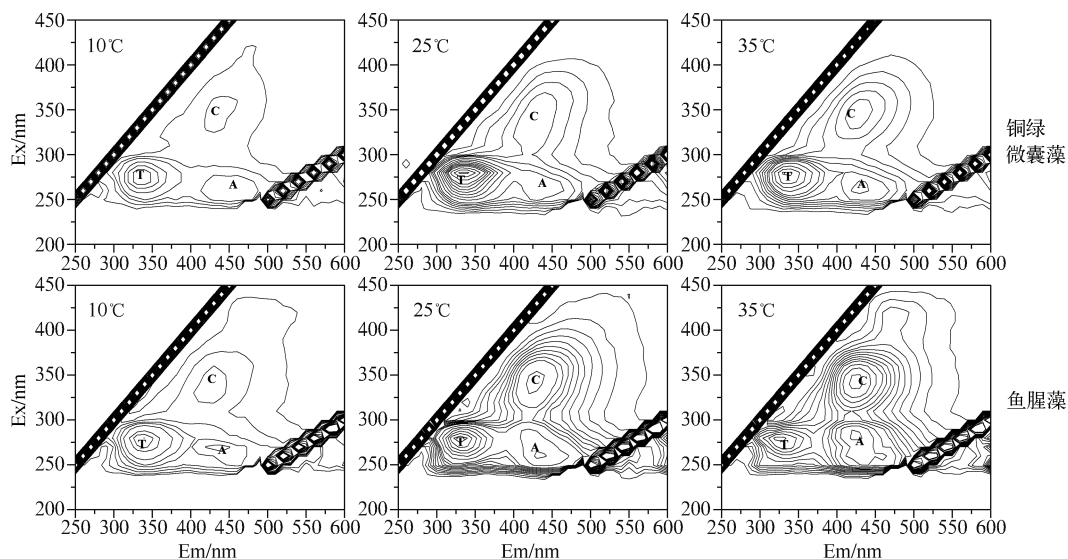


图5 不同温度条件下铜绿微囊藻及鱼腥藻胞外有机物的三维荧光图谱(对数生长期)

Fig. 5 Fluorescence excitation-emission matrix of extracellular organic matter of *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena* sp. under different temperature conditions(exponential phase)

3 结论

1) 25°C条件下铜绿微囊藻和鱼腥藻的生长速率高于低温10°C和高温35°C条件。相对于鱼腥藻,铜绿微囊藻耐受高温的能力更强,耐低温的能力较弱。这2种藻对温度变化的响应,解释了为什么巢湖在夏、秋季的优势种为铜绿微囊藻,而在冬、春季则为鱼腥藻。不同温度下2种藻的碱性磷酸酶活性特征,验证了高温对鱼腥藻生长的抑制作用和低温对铜绿微囊藻生长的抑制作用。

2) 温度对2种藻胞外有机物的释放有较大影响。低温条件不利于胞外有机物的释放。铜绿微囊藻在最适温度条件下(25°C)的DOC和胞外多糖含量都高于高温条件(35°C),而鱼腥藻与之相反,且鱼腥藻胞外有机物释放量大于铜绿微囊藻。EEMs图谱分析表明,铜绿微囊藻和鱼腥藻胞外有机物以类蛋白质和类腐殖酸为主。温度的影响主要表现为有机物含量随着温度升高而有所变化,对有机物组成没有影响。

3) 在蓝藻生长的最适温度及高温条件下,铜绿微囊藻和鱼腥藻的胞外有机物释放量明显增加。因此在蓝藻水华发生期,大量释放的藻源性有机物增加了水体中消毒副产物前驱物质含量,对饮用水安全构成威胁。

4 参考文献

- [1] Tokmak B, Capar G, Dilek FB *et al.* Trihalomethanes and associated potential cancer risks in the water supply in Ankara, Turkey. *Environmental Research*, 2004, **96**(3):345-352.
- [2] Yang X, Guo WH, Shen QQ. Formation of disinfection byproducts from chlor(am)ination of algal organic matter. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, **197**:378-388.
- [3] Fang JX, Yang X, Ma J *et al.* Characterization of algae organic matter and formation of DBPs from chloramination. *Water Research*, 2010, **44**:5897-5906.
- [4] 陈长平,高亚辉,林 鹏. 盐度和pH对底栖硅藻胞外多聚物的影响. *海洋学报*, 2006, **28**:123-129.
- [5] Urbani R, Magaletti E, Sist P *et al.* Extracellular carbohydrates released by the marine diatoms *Cylindrotheca closterium*, *Thalassiosira pseudonana* and *Skeletonema costatum*: Effect of P-depletion and growth status. *Science of the Total Environment*, 2005, **353**(1): 300-306.

- [6] 齐 飞, 刘晓媛, 徐冰冰等. 营养盐水平对念珠藻胞外有机物产生的影响. 环境科学, 2012, **33**(5): 1556-1563.
- [7] 陈建中, 刘志礼, 李晓明等. 温度, pH 和氮, 磷含量对铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 生长的影响. 海洋与湖沼, 2010, **41**(5): 714-718.
- [8] 方晶云. 蓝藻细胞及藻类有机物在氯化消毒中副产物的形成机理与控制[学位论文]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2010.
- [9] Gao G, Zhu GW, Qin BQ *et al.* Alkaline phosphatase activity and the phosphorus mineralization rate of Lake Taihu. *Science in China : Series D*, 2006, **49**(1): 176-185.
- [10] Yang Z, Kong FX, Shi XL *et al.* Changes in the morphology and polysaccharide content of *Microcystis aeruginosa* (cyanobacteria) during flagellate grazing. *Journal of Phycology*, 2008, **44**(3): 716-720.
- [11] Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK *et al.* Colorimetric method for determination of sugar and relative substances. *Analytical Chemistry*, 1956, **28**: 350-366.
- [12] Zhang YL, van Dijk MA, Liu ML *et al.* The contribution of phytoplankton degradation to chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in eutrophic shallow lakes: Field and experimental evidence. *Water Research*, 2009, **43**(18): 4685-4697.
- [13] 王婷婷, 朱 伟, 李 林. 不同温度下水流对铜绿微囊藻生长的影响模拟. 湖泊科学, 2010, **22**(4): 563-568.
- [14] 周易勇, 付永清. 水体磷酸酶: 来源, 特征及其生态学意义. 湖泊科学, 1999, **11**(3): 274-282.
- [15] 孔繁翔, 宋立荣等. 蓝藻水华形成过程及其环境特征研究. 北京: 科学出版社, 2011: 227-229.
- [16] 王 娜, 葛 飞, 吴秀珍等. 藻类及其胞外分泌物对净水工艺的影响. 水处理技术, 2010, **36**(2): 19-23.
- [17] Huang J, Graham N, Templeton MR *et al.* A comparison of the role of two blue-green algae in THM and HAA formation. *Water Research*, 2009, **43**(12): 3009-3018.
- [18] Pivokonsky M, Kloucek O, Pivokonska L. Evaluation of the production, composition and aluminum and iron complexation of algal organic matter. *Water Research*, 2006, **40**(16): 3045-3052.
- [19] Klock JH, Wieland A, Seifert R *et al.* Extracellular polymeric substances (EPS) from cyanobacterial mats: characterisation and isolation method optimization. *Marine Biology*, 2007, **152**: 1077-1085.
- [20] Hanlon ARM, Bellinger B, Haynes K *et al.* Dynamics of extracellular polymeric substance (EPS) production and loss in an estuarine, diatom-dominated, microalgal biofilm over a tidal emersion-immersion period. *Limnology and Oceanography*, 2006, **51**: 79-93.
- [21] Xu HC, Yu GH, Jiang HL *et al.* Investigation on extracellular polymeric substances from mucilaginous cyanobacterial blooms in eutrophic freshwater lakes. *Chemosphere*, 2013, **93**(1): 75-81.
- [22] 傅平青, 刘丛强, 吴丰昌等. 三维荧光光谱研究溶解有机质与汞的相互作用. 环境科学, 2004, **25**(6): 140-144.