

三峡水域季节及养分对铜绿微囊藻生长的影响^{*}

——模拟乌江回水区水环境的研究

任秋芳^{1,2}, 阿依巧丽¹, 朱智¹, 张义方³, 曾波¹

(1. 西南大学 三峡库区生态环境教育部重点实验室 重庆市三峡库区植物生态与资源重点实验室 生命科学院, 重庆 400715 ; 2. 广州市执信中学, 广州 510080 ; 3. 绵阳中学, 四川 绵阳 621000)

摘要: 三峡水库蓄水以后, 乌江回水区水环境将发生改变, 为探明该水域中铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*) 未来的生长情况, 在实验室模拟不同季节条件即温度、光照强度以及氮、磷浓度, 分析了该藻在静止水体中各环境条件下的比增长速率(μ)。研究发现, 1) 在相同氮磷初始浓度下, 铜绿微囊藻 μ 值在夏季显著大于春秋和冬季($p < 0.05$) 而在春秋和冬季没有显著性差异; 2) 在相同季节, 铜绿微囊藻的 μ 值随着氮磷初始浓度的增加而增加, 且在夏季各氮磷初始浓度下的 μ 值差异最大; 3) 本实验中季节和氮磷初始浓度对铜绿微囊藻 μ 值没有交互作用, 但季节对铜绿微囊藻 μ 值的影响作用大于氮磷初始浓度。结果表明, 静止水体中, 铜绿微囊藻在夏季的生长好于春秋和冬季, 并且在高氮磷初始浓度下生长更好, 本实验中季节因素对铜绿微囊藻生长影响显著。

关键词: 三峡水域区, 回水区, 铜绿微囊藻, 季节, 氮磷, 比增长速率

中图分类号: X171

文献标识码: A

文章编号: 1672-6693(2010)01-0042-05

乌江是长江上游右岸最大的支流, 受三峡水库成库的影响, 乌江从武隆江口以下至长江入口处, 将成为库区回水区。受水库回水顶托, 该区域水生生态系统的光照条件变好, 藻类生长所必须的氮磷营养显著增加, 局部水域已出现富营养化现象^[1]。

在我国大部分富营养化水体中, 铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*) 在数量和发生频率上均占优势^[2], 铜绿微囊藻死亡或细胞膜通透性增强时会向水中释放微囊藻毒素, 对环境和人类健康造成危害^[3]。因此, 中外学者就包括光照^[4]、温度^[5]、氮磷营养盐^[6-7]、酸碱度^[8]以及流速^[9]等在内的环境因子对其生长的影响做了大量研究。

以往众多研究主要集中在单个环境因子对藻类生长的影响。而在自然条件下, 藻类的生长往往受到各环境因子的共同影响。到2009年三峡水库蓄水完成后, 乌江回水区水体环境条件的改变, 势必影响该水体中蓝藻优势藻种铜绿微囊藻的生长。本实验以铜绿微囊藻为研究对象, 在模拟乌江不同季节(温度和光照强度组合)和氮磷初始浓度条件下, 研究了静止水体中铜绿微囊藻在这两个因素相互作用

下的生长情况, 以期对三峡水库蓄水后乌江藻类生长的深入研究提供参考, 并为乌江水生态环境保护 and 污染防治提供基本资料。

1 材料与方法

1.1 材料来源

在乌江涪陵段采集浮游藻类, 经显微镜观察和鉴定, 进行预备培养, 再用微细管分离、灭菌等步骤得到纯化的实验藻种铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*) 然后将纯化藻种保存在 HGZ 培养液中进行培养。

1.2 接种和培养方法

实验前将藻种扩大培养 1 周左右, 取藻液以 3 000 r/min 的速度离心 5 min, 弃上清液, 用 15 mg/L 的碳酸氢钠溶液洗涤沉淀, 然后按以上条件离心。如此操作重复 3 次。然后用无菌水稀释经离心洗净后的沉淀, 将其接种于无氮磷的 HGZ 培养液中进行饥饿培养^[7] 2 d 后用于实验。

将实验所用铜绿微囊藻接种于已灭菌的 300 mL HGZ 培养液中, 初始叶绿素 a 浓度为 0.02 $\mu\text{g/L}$, 利用 GXZ-300D 型智能型光照培养箱培养。实验中所用

* 收稿日期 2009-02-20 修回日期 2009-04-10

资助项目: 国家教育部春晖计划项目(No. 渝教外[2004]7) ; 重庆市应用基础项目(No. 2003-7858)

作者简介: 任秋芳, 女, 硕士研究生, 研究方向为藻类生态学; 通讯作者: 曾波, E-mail: bzeng@swu.edu.cn

不同温度和光照强度组合,模拟了乌江回水区水体中 3 种季节即春秋季节、夏季和冬季的光温条件;每一季节条件下设置低、中、高 3 个氮磷初始浓度水平,其氮、磷营养浓度通过改变 HGZ 培养液中 NaNO_3 、 K_2HPO_4 浓度来实现(具体培养条件见表 1),实验在静止培养条件下进行,每个处理设置 3 个重复,光暗周期比为 12 h:12 h,每天定时人工摇动 2~3 次。

表 1 实验培养条件

Tab. 1 Conditions of different treatments

季节	光照强度 ($\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)	温度 / $^{\circ}\text{C}$	总氮浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	总磷浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
春秋季节	450	15	0.2	0.01
			2	0.1
			6	0.3
冬季	100	10	0.2	0.01
			2	0.1
			6	0.3
夏季	60	25	0.2	0.01
			2	0.1
			6	0.3

1.3 叶绿素 a 浓度的测定和比增长速率的计算^[10]

利用 PHYTO-PAM 浮游植物叶绿素荧光仪(德国 Heinz Walz GmbH 公司生产)测定不同培养条件下铜绿微囊藻的叶绿素 a 浓度,其测定下限值为 $0.01 \mu\text{g}/\text{L}$ 。自接种之日起第 5 d 开始测量,每隔 2 d 测定 1 次。

叶绿素 a 是藻细胞将光能转化为化学能的主要色素,其合成量的多少直接决定了该物种的光合作用能力和对水域中碳含量的贡献,因此作为浮游植物体内主要色素叶绿素 a 的相关参数,如叶绿素 a 浓度、比增长速率(μ)等可以用来衡量浮游植物的生长情况^[11],其中后者应用较为广泛,其计算公式为

$$\mu = \ln(x_1/x_2)/(t_1 - t_2)$$

式中 x_1 、 x_2 分别为某一时间间隔开始和终结时的藻类叶绿素 a 浓度($\mu\text{g}/\text{L}$), $(t_1 - t_2)$ 为某一时间间隔(d)。

1.4 数据分析

利用统计分析软件 SPSS 13.0 进行实验数据的处理和分析。用单因素方差分析法分析不同季节、氮磷初始浓度对铜绿微囊藻 μ 值的影响,并采用 Duncan 多重比较法检验不同处理之间的差异;用双因素方差分析法检测不同季节和氮磷初始浓度对铜绿微囊藻 μ 值的交互作用。

2 结果

2.1 不同季节对铜绿微囊藻生长的影响

图 1 中 A~C 分别表示了低、中、高氮磷初始浓度下铜绿微囊藻叶绿素 a 浓度在不同季节的变化情况。铜绿微囊藻叶绿素 a 浓度随着培养时间的增加而增加,从第 8 d 开始进入指数生长期,且叶绿素 a 浓度在夏季始终大于春秋季节和冬季;铜绿微囊藻在春秋季节和冬季的生长趋势一致,在培养末期其叶绿素 a 浓度明显小于夏季。

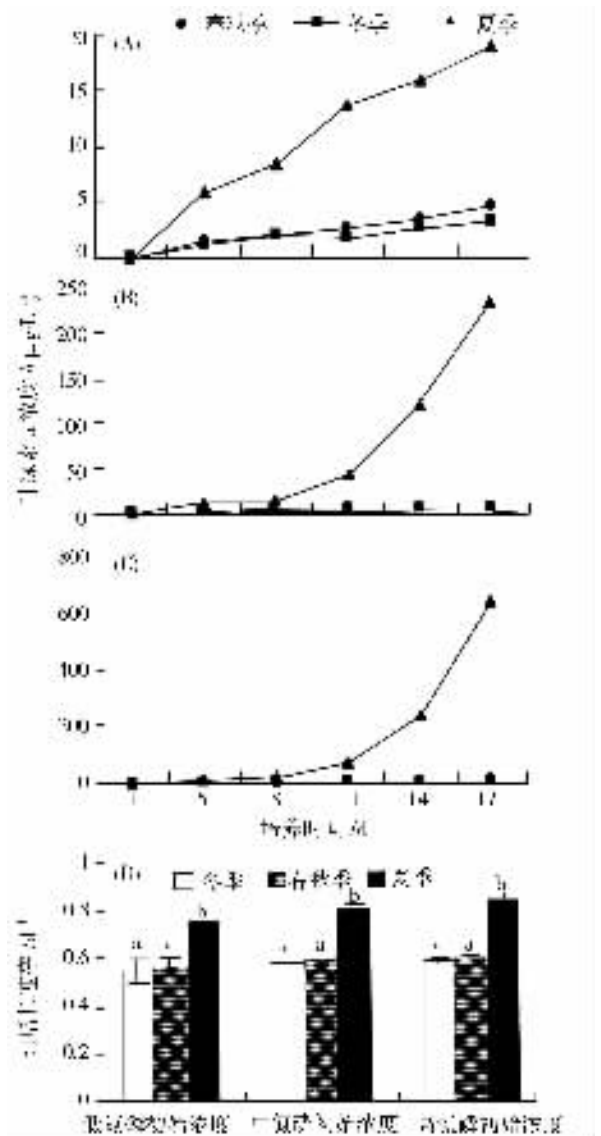


图 1 不同季节下铜绿微囊藻的生长状况

Fig. 1 Effects of different season on the growth of *M. aeruginosa*

由图 1(D)可见(图中相同氮磷初始浓度下不同小写字母表示各季节处理之间有显著性差异(p

< 0.05)) , 在相同氮磷初始浓度下 , 铜绿微囊藻在不同季节的 μ 值变化趋势相同 : 即夏季 > 春秋季节 > 冬季 , 春秋季节与冬季 μ 值没有显著性差异 , 而夏季的 μ 值与春秋季节和冬季相比则有显著性差异 ($p < 0.05$) , 并且随着初始氮磷营养浓度的升高 , 显著性差异逐渐增大。

2.2 不同氮磷初始浓度对铜绿微囊藻生长的影响

在相同季节 , 铜绿微囊藻在不同氮磷初始浓度下叶绿素 a 浓度随着时间的增加而增加 (图 2 A ~ C 分别代表春秋季节、冬季、夏季的情况) 。在春秋季节和冬季 , 铜绿微囊藻从培养的第 5 d 开始进入生长期 , 各氮磷初始浓度水平下叶绿素 a 浓度变化不大 , 培养末期叶绿素 a 浓度均约为 4 $\mu\text{g/L}$; 在夏季 , 从培养的第 8 d 开始进入指数生长期 , 铜绿微囊藻叶绿素 a 浓度在各氮磷初始浓度之间的差异随着时间的增加而增大。

从图 2 (D) 可知 (图中相同季节下不同小写字母表示各氮磷初始浓度处理之间有显著性差异 ($p < 0.05$) , ns 表示无差异) , 在相同季节 , 铜绿微囊藻的 μ 值在不同氮磷初始浓度下变化趋势一致 : 即随着氮磷初始浓度的升高 , 铜绿微囊藻的 μ 值增加 ; 在春秋季节和冬季培养条件下 , 铜绿微囊藻在各氮磷初始浓度下的 μ 值没有显著性差异 , 而在夏季 , 铜绿微囊藻在中、高氮磷初始浓度下的 μ 值显著大于低氮磷初始浓度下的 μ 值 ($p < 0.05$) 。

2.3 不同季节和氮磷初始浓度对铜绿微囊藻生长的影响

比较表 2 中各处理变量的显著性水平可以看出 , 不同氮磷初始浓度对铜绿微囊藻 μ 值影响显著 ($p < 0.05$) , 而季节对铜绿微囊藻 μ 值的影响极显著 ($p < 0.01$) , 但两者的交互作用不显著。Eta 平方的大小可以表示各环境因子处理对铜绿微囊藻比生长速率的效应大小 , 在本实验中 , 季节作用的 Eta 平方 > 氮磷初始浓度作用的 Eta 平方 > 氮磷初始浓度和季节相互作用的 Eta 平方 , 表明本实验中季节对铜绿微囊藻生长的影响作用更大。

表 2 不同季节和氮磷初始浓度对铜绿微囊藻比增长速率的影响

Tab. 2 Effects of different season and original concentration of TN and TP on the μ of *M. aeruginosa*

变量	自由度	F 值	显著性水平	Eta 平方
氮磷初始浓度	2	4.204 5	0.031 75	0.318 4
季节	2	86.924 8	5.63×10^{-10}	0.906 2
氮磷初始浓度 × 季节	4	0.517 5	0.723 9	0.103 1

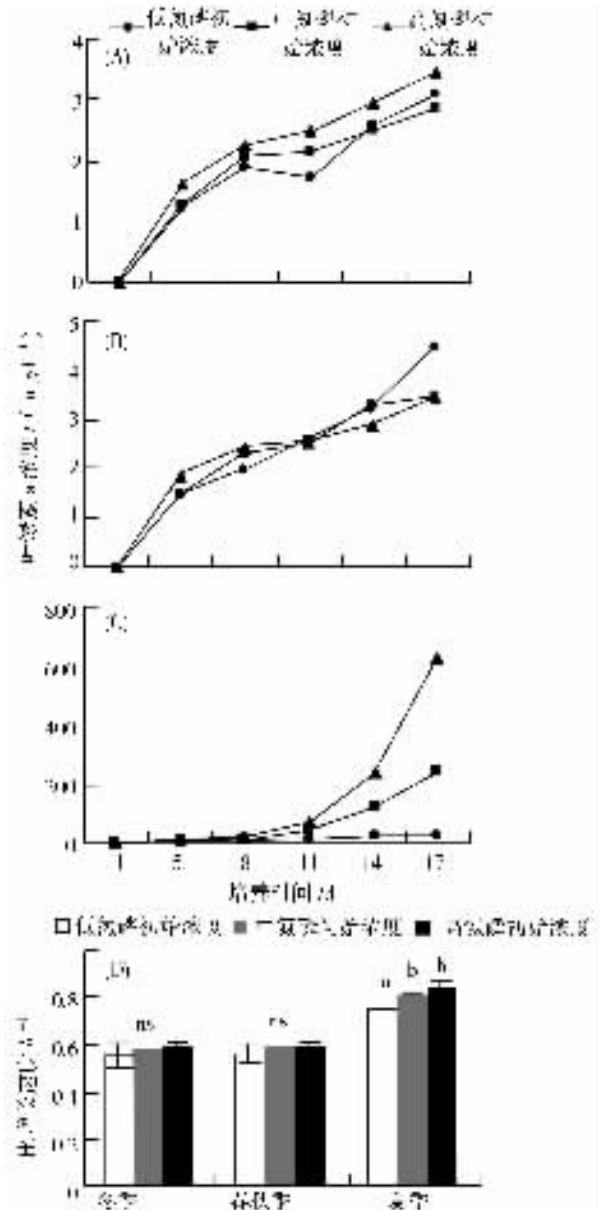


图 2 不同氮磷初始浓度下铜绿微囊藻的生长状况
Fig. 2 Effects of different original concentration of TN and TP on the growth of *M. aeruginosa*

3 讨论

本研究中 , 不同季节之间的差异为光照强度和温度的不同。从图 1 可见 , 铜绿微囊藻的生长随着各季节温度的增加而增大 , 可见温度对铜绿微囊藻生长的影响较大。温度能够影响藻细胞中酶的活性、细胞分裂周期 , 在适宜的温度范围和光照强度下 , 随着温度的升高 , 藻类光合作用加强 , 从而其生长加快^[12] , 因而本研究中铜绿微囊藻在夏季生长较好。图 2 则显示 , 随着氮磷初始浓度的增加 , 铜绿微囊藻生长加快。由于氮和磷是藻细胞体内蛋白质、

磷脂等的组成元素,其中氮还是叶绿素的主要成分;故而两者对植物光合速率、暗反应的主要酶以及光呼吸等都有明显的影响,从而直接或间接影响着光合作用。因此随着氮磷浓度的增加,铜绿微囊藻生长所必需的物质合成加快,其生长也加快^[13-15]。

本研究表明,季节和氮磷营养两个环境因子对铜绿微囊藻生长没有交互作用,但季节对铜绿微囊藻生长的影响作用大于氮磷营养的作用。当温度升高,氮、磷等营养物质在水体中的迁移转化过程加速,同时由于水中溶解氧含量减少,藻类呼吸量增大,从而有利于藻类对营养物质的吸收,促进各种生物化学反应的进行,以满足藻细胞完成自身生长、繁殖的需要。因此,本研究中水体温度为25℃时的夏季,铜绿微囊藻适应新环境的能力较强, μ 值也相对较大,藻类生长较好。在冬季低温下,铜绿微囊藻不能充分利用氮磷营养元素,藻类生长受限。而在春秋季节,较高的光照强度($450 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)以及较低的温度(15℃)限制了铜绿微囊藻对氮磷营养的吸收与利用,从而致使该藻的生长受限。

三峡水库建成后,入库支流和库湾区域水体各方面理化性质发生了巨大变化,形成了一些新的、非常不稳定的生境^[1],在坝前及支流回水区水体中颗粒物沉降,水体透明度显著提高,从而水生生态系统的光照条件变好^[16]。并且由于水动力条件的改变,库区支流水体中氮磷营养盐将大大增加。因此,三峡水库蓄水后,回水区水体环境将更有利于藻类的生长,特别是在夏季较高的温度和光照环境下,很容易形成藻类爆发性生长,届时蓝藻的爆发性生长更是不能忽视。由于控制藻类生长的环境因子中光照、温度等多为自然因素,不易控制,因而主要还是从削减营养物负荷入手,通过减少氮磷营养元素的排入从而达到控制藻类爆发性生长的目的。同时,今后还应该加强多个环境因子对藻类生长的交互作用的机理研究,为控制藻类的爆发性生长提供更完善的理论依据。

参考文献:

- [1] 蔡庆华,胡征宇. 三峡水库富营养化问题与对策研究[J]. 水生生物学报, 2006, 30(1): 7-11.
- [2] 金相灿. 中国湖泊富营养化控制技术[C]/[编者不详]. 中国湖泊富营养化及其防治国际学术研讨会专家论文集. 北京: 国家环境保护总局, 2000: 215-223.
- [3] 王晓蓉,郭红岩. 太湖富营养化控制对策探讨[C]/[编者不详]. 中国湖泊富营养化及其防治国际学术研讨会专家论文集. 北京: 国家环境保护总局, 2000: 229-235.
- [4] 沈英嘉,陈德辉. 不同光照周期对铜绿微囊藻和绿色微囊藻生长的影响[J]. 湖泊科学, 2004, 16(3): 285-288.
- [5] 赵颖,张永春. 流速与温度的交互作用对铜绿微囊藻生长的影响[J]. 江苏环境科技, 2008, 21(1): 23-26.
- [6] 金相灿,郑朔方. 有机磷和无机磷对铜绿微囊藻生长的影响及动力学分析[J]. 环境科学研究, 2006, 19(5): 40-44.
- [7] 郑朔方,杨苏文,金相灿. 铜绿微囊藻生长的营养动力学[J]. 环境科学, 2005, 26(2): 152-156.
- [8] 金相灿,李兆春,郑朔方,等. 铜绿微囊藻生长特性研究[J]. 环境科学研究, 2004, 17(Suppl.): 52-54, 61.
- [9] 高月香,张毅敏,张永春. 流速对太湖铜绿微囊藻生长的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2007, 23(2): 57-60, 88.
- [10] 金相灿,屠清瑛. 湖泊富营养化调查规范[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990: 282-283.
- [11] 吴生才,陈伟民. 太湖浮游植物生物量的周期性变化[J]. 中国环境科学, 2004, 24(2): 151-154.
- [12] Woldman J C, Mann R. Temperature influenced variations in speciation and the chemical composition of marine phytoplankton in outdoor mass cultures[J]. Experimental Marine Biology and Ecology, 1980, 46: 29-40.
- [13] 刘玉生,韩梅,梁占彬. 光照、温度和营养盐对滇池微囊藻生长的影响[J]. 环境科学研究, 1995, 8(6): 8-11.
- [14] 易文利,王国栋,刘选卫. 氮磷比例对铜绿微囊藻生长及部分生化组成的影响[J]. 西北农林科技大学学报, 2005, 33(6): 151-154.
- [15] 赵平,孙谷畴,彭少麟. 植物氮素营养的生理生态学研究[J]. 生态科学, 1998, 17(2): 37-42.
- [16] 王彻华,刘辉,余明星,等. 三峡水库蓄水至135m库区水质变化分析与保护建议[J]. 水利水电快报, 2006, 27(7): 24-27.

**The Effects of Season and Nutrients on the Growth of *Microcystis aeruginosa*
in Three Gorges Reservoir Water Area :
A Study Under the Simulated Conditions of Water
Environment of the Water-back up Area of Wujiang River**

REN Qiu-fang^{1 2} , A-yi-qiao-li¹ , ZHU Zhi¹ , ZHANG Yi-fang³ , ZENG Bo¹

(1. Key Laboratory of Eco-environments in Three Gorges Reservoir Region (Ministry of Education) , Chongqing Key Laboratory of Plant Ecology and Resources in Three Gorges Reservoir Region School of Life Science , Southwest University , Chongqing 400715 ;

2. Zhixin High School of Guangzhou , Guangzhou 510080 ; 3. Mianyang High School , Mianyang Sichuan 621000 , China)

Abstract : After the storage of Three Gorges Reservoir the water environment of the water-back up area of Wujiang River will change. In order to search for the effects of the environmental factors on the growth of *Microcystis aeruginosa* , the dominant species of blue algae in this area , a simulation experiment is designed to study the effects of different environmental factors , including seasonal characteristics (different temperature and illumination) , total nitrogen and total phosphorus concentration , also on the growth of *M. aeruginosa* under the quiescent culture. The specific growth rate (μ) is used to assess the growth of *M. aeruginosa*. It has been found that 1) Under the same original concentration of total nitrogen and total phosphorus , the value of μ in summer is significantly higher than that in spring and winter , but there is no difference between the value of μ in spring and winter ; 2) Under the same season , the value of μ of *M. aeruginosa* increases with the increases of total nitrogen and total phosphorus concentration , the difference of the value of μ among different total nitrogen and total phosphorus concentration is the biggest in summer ; 3) In this experiment , there is no interaction between season and nitrogen , phosphorus nutrients. The results demonstrate that under the quiescent culture *M. aeruginosa* grows better in summer than in spring and winter , the higher concentration of total nitrogen and total phosphorus , the higher growth of *M. aeruginosa* , the effect of season on the growth of *M. aeruginosa* is more important than the effects of nutrients.

Key words : Three Gorges Reservoir water area ; water-back up area ; *Microcystis aeruginosa* ; season ; nitrogen and phosphorus ; the specific growth rate

(责任编辑 方 兴)