

DOI :10.3876/j.issn.1000-1980.2010.01.004

2 种藻类储磷释磷过程与生长情况对比

吴 珊,张晓萍,张福萍

(北京工业大学建筑工程学院,北京 100124)

摘要:在不同氮磷比的培养条件下,利用实验室静态培养试验,通过结合铜绿微囊藻和小球藻生长情况分析对比了铜绿微囊藻和小球藻的储磷能力和营养利用特征.结果表明,在培养环境下,2 种藻类都能够在最初的延滞生长期首先将水中全部磷吸收并储存于细胞体内,而后随着生长的需要和环境的变化,适时将体内的磷释放出来供细胞繁殖所用,但铜绿微囊藻和小球藻在不同氮磷比的营养条件下释磷生长的规律表现有所差别.因此,在以磷作为水体是否会发生水华的监测指标时,应注意到对藻类生长而言水中磷的存在具有隐蔽性这一特点,需要使水中的磷质量浓度始终保持较低水平,包括在藻类的低速生长期,这样才能确保减少水华发生的可能性.

关键词:铜绿微囊藻;小球藻;超前储磷;氮磷比;水华
中图分类号:TU992.3 文献标识码:A 文章编号:1000-1980(2010)01-0015-05

水体中磷含量的高低是湖泊、海洋等水体是否会出现水华现象的重要限制因素之一.藻类从水中摄取磷后,在体内合成磷化合物,支持其正常的代谢作用.研究^[1-2]表明,磷是限制水生生态系统初级生产力水平的关键因素,过量磷的输入是引起水体富营养化问题的主要原因之一.因此,水中磷的质量浓度通常作为水体是否会发生富营养化的监测指标.Droop 方程证明了浮游植物有储存营养盐的功能^[3],当介质中营养盐浓度很低时,浮游植物消耗其内部储存的营养盐用于生长,当外界营养盐浓度很高时,浮游植物会储存所吸收而又来不及消化的营养盐,用于缓解外界营养盐变化带来的影响.因此,在不同氮磷比条件下,比较不同种类藻种以其生长状况来表征的对磷的吸收利用规律对于确定更科学和更准确的水华发生监控指标具有重要而实际的应用价值和一定的基础理论意义.笔者采用实验室静态培养的方式,分别以自然水体和再生水为补充水源的水体发生水华常见的优势藻种铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)和小球藻(*Chlorella vulgaris*)为对象进行试验研究,通过藻细胞密度、比增长率及胞外磷浓度值相互结合进行对比分析.

1 试验方法和分析项目

1.1 藻种

试验研究分别选用了自然水体水华的优势藻种——铜绿微囊藻和以再生水为补给源的水体爆发水华时常见的小球藻.纯藻种来源于中国科学院武汉水生生物研究所,经扩大培养作为试验藻种.

1.2 试验方法

采用湖水培养基,所取湖水经 0.45 μm 滤膜后,于 108 kPa 压力和 120℃ 下蒸煮 15 min,储于玻璃容器中,于黑暗处 4℃ 保存.试验时,在定量湖水加入不同比例的磷(KH₂PO₄)和氮(NH₄Cl)作为氮磷营养源.

参考相关水质标准确定试验中基本氮磷值及其不同变化比例,各试验组如表 1 所示,观

表 1 试验中氮磷质量浓度及氮磷比值							
Table 1 Mass concentration of N and P and N/P ratios for tests							
组别	$\rho(\text{TN})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$\rho(\text{TP})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$m(\text{N}):m(\text{P})$	组别	$\rho(\text{TN})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$\rho(\text{TP})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$m(\text{N}):m(\text{P})$
a-1,b-1	5	0.5	10:1	a'-1,b'-1	5	0	10:0
a-2,b-2	10	0.5	20:1	a'-2,b'-2	5	1.0	10:2
a-3,b-3	15	0.5	30:1	a'-3,b'-3	5	1.5	10:3
a-4,b-4	20	0.5	40:1	a'-4,b'-4	5	2.0	10:4
a-5,b-5	25	0.5	50:1	a'-5,b'-5	5	2.5	10:5

注:a,a'代表铜绿微囊藻;b,b'代表小球藻.

察分析藻类的生长情况.

试验前限制藻类的营养供给,试验时培养基中接入经无氮磷化处理过的藻种,25℃、光照强度 3 000 lx,光暗时间比为 12 h:12 h 的条件下培养 21 d,期间每天摇动 3~4 次.

试验所用玻璃器皿均先于 1 mol/L 的 HCl 溶液中浸泡 2 d,用去离子水冲洗干净消毒后于 150℃烘箱中备用.

1.3 分析与测试

- a. 藻细胞密度:XB-K-25 型血球计数板计数.
- b. 吸光度:每隔 2 d 定时取藻液,分别在 440 nm 和 510 nm 下用分光光度计测定.
- c. 胞外磷质量浓度测定:经微孔滤膜过滤的藻液的滤液,用抗坏血酸还原的钼蓝法测定活性磷酸盐.

2 结果和讨论

2.1 胞外磷含量变化对比分析

图 1 反映了不同氮磷比条件下,铜绿微囊藻胞外磷质量浓度变化情况;图 2 反映了不同氮磷比条件下,小球藻胞外磷质量浓度变化情况.

由图 1 可见,铜绿微囊藻在接种后 9 d 内,不论培养基中磷的质量浓度如何变化(0→2.5 mg/L),其胞外磷质量浓度几乎一直接近于 0 mg/L. 说明其一进入培养水体就立即将其磷全部吸收并储存于体内. 其中 a 试验组(即磷不变氮增加组),在 9~12 d 时出现大量释磷现象,12 d 时达到峰值,之后胞外磷质量浓度再次下降,磷被吸收,15 d 时达最小值,之后总体上逐渐趋稳. 在 a' 组(即氮不变磷增加组),9 d 时开始释磷后逐步呈上升趋势至趋稳,没有出现再次吸收情况. 对比 a 组和 a' 组藻类所释放的胞外磷质量浓度并结合图 3 铜绿微囊藻生长曲线综合分析可以看出:藻类生长对氮磷比是有一定要求的,铜绿微囊藻在氮充足条件下,对培养初期储存于体内的磷利用率很高,释放到胞外的磷量很少,这种情况下,虽然测定水中磷质量浓度不高但藻类实际仍然在大量生长. 而在氮受限的情况下,铜绿微囊藻会将贮存于体内多余的磷逐步全部释放到水体中,此时表现出水中磷质量浓度很高,铜绿微囊藻仍然保持大量生长状态,说明相对来说其可以适应低营养条件.

由图 2 可见,小球藻接种不久就将水体中的磷全部吸收,胞外磷质量浓度几乎为 0 mg/L,但释磷时间比铜绿微囊藻滞后,基本到 12 d 以后才开始,且上升速率较快. 比较同样 $m(N):m(P)$ 的 a, b 组的释磷值,小球藻明显低于铜绿微囊藻,说明小球藻生长所摄取的 N, P 营养高于铜绿微囊藻. 所以,在营养比较丰富的再生水中它可以成为优势藻类. b' 组同样 12 d 时开始大量向水中释放磷,但之后又重新吸收一部分,最终水中磷质量浓度基本维持在 0.5 mg/L 左右,说明小球藻繁殖所适应的生长条件比较宽.

2 种藻类在相似的氮磷条件下对于磷的储存情况相近,但释磷过程有差异,说明这 2 种藻的生活习性和对 N, P 营养盐的需求与利用不完全相同.

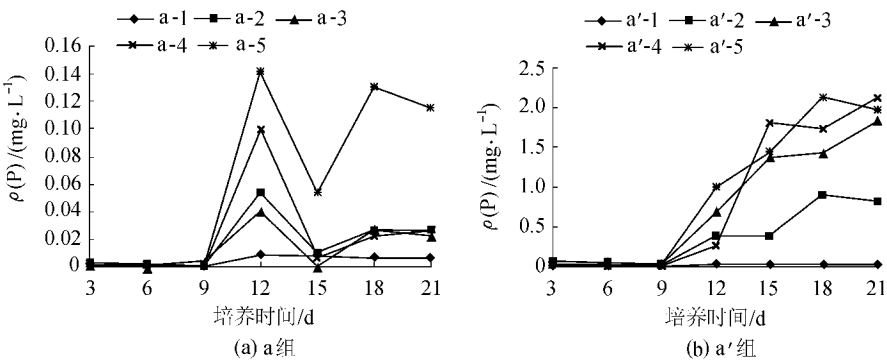


图 1 铜绿微囊藻胞外磷质量浓度

Fig. 1 Mass concentration of P outside *Microcystic aeruginosa* cells

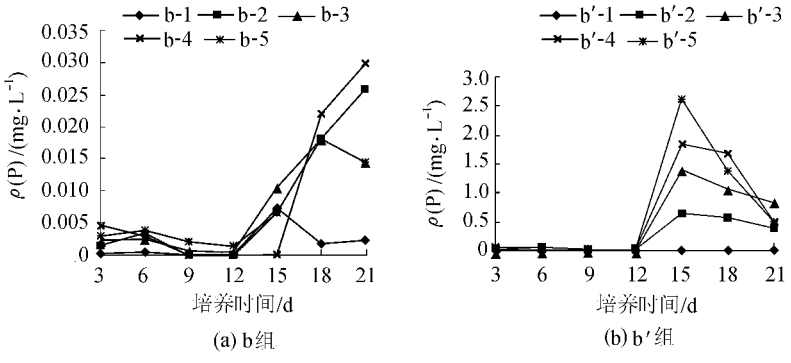


图 2 小球藻胞外磷质量浓度

Fig. 2 Mass concentration of P outside *Chlorella vulgaris* cells

2.2 生长曲线对比分析

以藻细胞密度分析不同氮和磷质量浓度对铜绿微囊藻生长的影响。如图 3 所示：在延滞期，各培养介质中铜绿微囊藻的生长缓慢，差异不大；基本是在 9 d 左右开始迅速生长，进入不同程度的对数生长期。从图 1 可知，此时藻类早已将水体中磷吸收完毕并开始向水体中释放磷。由此可以看出，藻类对于磷的吸收与自身的生长并不同步，存在‘提前消费’现象。即在培养试验刚开始时，藻类就迅速将介质中磷吸收，但此时生物量只有少量增加，大量的磷储存在细胞内，为细胞的继续分裂提供了足够的营养储备，也为磷以外的营养盐的消耗提供了物质基础。

同样，对比研究小球藻在不同氮、磷条件下的生长情况，如图 4 所示。小球藻生长状况和铜绿微囊藻有相似之处，在延滞期，各培养介质中小球藻的生长缓慢，差异不大，不同的是在不同的营养条件下，在接种后 6 d 基本均进入对数增长期，生长趋势基本相近。从图 2 可知，此时小球藻虽已将水体中磷全部吸收但并没有开始向水体中释放磷，胞外磷质量浓度仍然几乎为 0 mg/L。

以藻细胞数量达到 10^7 个/mL 为发生水华的标准对比这 2 种藻类出现水华的时间可知，在磷一定的条件下，铜绿微囊藻出现水华的时间基本为 12 d (图 3(a))，此时铜绿微囊藻的胞外磷质量浓度达到最大 (图 1(a))。在氮的一定条件下，小球藻出现水华的时间基本为 15 d (图 4(b))，此时其胞外磷质量浓度也达到最大 (图 2(b))。由此可以推测：一旦发生水华，藻类会释放出大量的磷，而所释放出的磷又会被其他藻类再次储存在体内，用于其增长繁殖，从而诱发更大规模的水华。这种推测与观测到的水华发生规律是相吻合的 [4-6]。

2.3 比增长率变化情况对比分析

从藻类生长速度来分析，最大比增长率 $\mu_{\max}$ 是在一定条件下藻类潜在增长率最高值 [7-12]，达到 $\mu_{\max}$ 的条件是藻类生长的最适条件。

从图 5 可见，铜绿微囊藻基本在 3 d 时出现 $\mu_{\max}$ 。这说明铜绿微囊藻在刚刚将水体中的磷全部吸收后就能达到最大的生长速度，也证明了磷对于藻类细胞分裂增殖的重要性。从图 6 可以看出，小球藻基本在 6 d 时出现 $\mu_{\max}$ 。这说明铜绿微囊藻比小球藻的适应性更强。

比较图 5(a) 和图 6(a) 可知：在磷一定的条件下， $m(N):m(P)$ = 40:1 时出现 $\mu_{\max}$ ，而小球藻则是 $m(N):m(P)$ = 20:1 时出现 $\mu_{\max}$ 。而在氮一定的条件下， $m(N):m(P)$ = 10:4 时小球藻出现 $\mu_{\max}$ ， $m(N):m(P)$ = 10:2 时铜绿微囊藻出现 $\mu_{\max}$ 。这些均证明小球

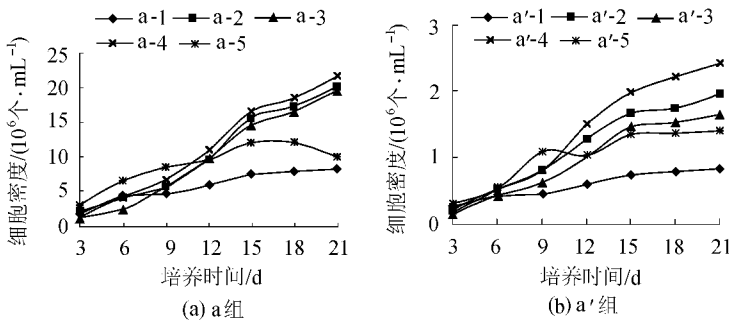


图 3 铜绿微囊藻生长曲线

Fig. 3 Growth curves of *Microcystic aeruginosa*

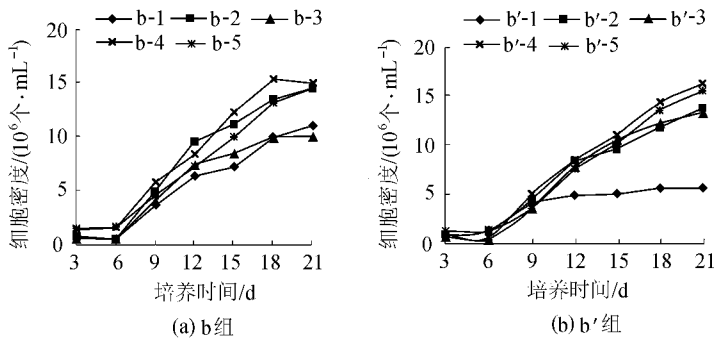


图 4 小球藻生长曲线

Fig. 4 Growth curves of *Chlorella vulgaris*

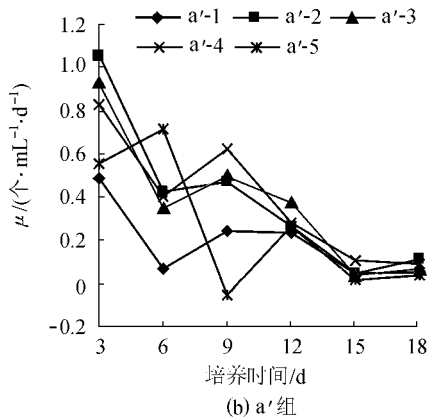
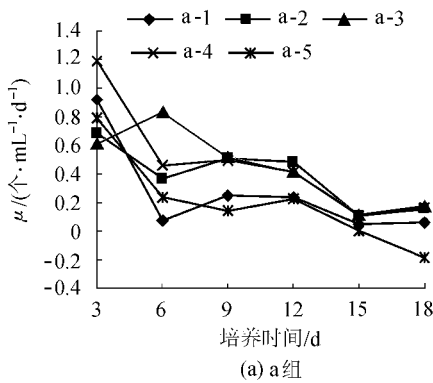


图 5 铜绿微囊藻比增长率曲线

Fig. 5 Growth rate of *Microcystic aeruginosa*

藻繁殖所需营养物水平高于铜绿微囊藻.

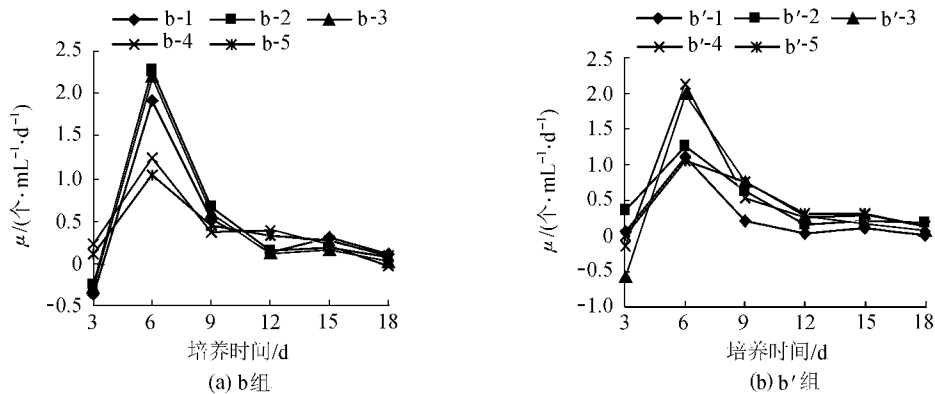


图 6 小球藻比增长率曲线

Fig. 6 Growth rate of *Chlorella vulgaris*

从表 2 所反映的平均比增长率数值可以发现,小球藻的平均比增长率基本上均大于铜绿微囊藻.这一方面说明小球藻一旦适应新环境之后就能够以更快的速度进行增殖,另一方面也说明不同藻类都有自己不同的生长特点,不能全部用一种方法来控制.

表 2 4 组的平均比增长率

Table 2 Average growth rates of 4 groups

$m(N):m(P)$	a 组平均比增长率	b 组平均比增长率	$m(N):m(P)$	a' 组平均比增长率	b' 组平均比增长率
10:1	0.429	0.441	10:0	0.188	0.244
20:1	0.383	0.441	10:2	0.394	0.460
30:1	0.444	0.467	10:3	0.378	0.454
40:1	0.471	0.407	10:4	0.387	0.522
50:1	0.201	0.387	10:5	0.254	0.417

3 结 论

试验结果表明 对于藻类生长非常重要的磷,藻类具有超前储藏的本领 ;小球藻和铜绿微囊藻均能够在第一时间将水体中的磷全部吸收并储存在体内以维持之后的生长,从而出现藻类发生水华而水体仍然维持低磷浓度的‘假象’.以磷质量浓度来判定河湖是否会发生富营养化时应该注意磷的存在具有隐蔽性,以免忽略突发性浮游植物水华的前兆.因此,对于以再生水为补水水源的景观水体,为了确保安全,应持续保持控制较低的含磷量,这样才能够避免水华的发生.

不同 $m(N):m(P)$ 对再生水中藻类细胞生长有明显影响.只有当水中的无机氮和无机磷达到一定水平以上时, $m(N):m(P)$ 对藻类才有意义.两者很低或者很高,对藻类生长都是不利的.天然水体中多种藻类共存,各种藻类生长所需的 $m(N):m(P)$ 具有种类特异性,生长适应条件和适应性不完全相同,对营养盐的需求也有差别.在达到其适合的生长条件时,其增殖速率会大于其他藻类而成为优势藻.因此,营养盐的比例会导致发生水华的优势藻种的差异和水华的规模的不同,不应用固定的 $m(N):m(P)$ 作为划分限制性营养盐的标准.从这个角度而言,对于不同氮磷比营养盐条件下藻类生长机制的研究对于水华的控制具有非常重要的意义.

参考文献：

[1] 刘远波,陈伟明,范成新,等.太湖梅梁湾藻类生态模拟与蓝藻水华治理对策分析[J].湖泊科学,1998,10(4):53-60. (LIU Yuan-bo, CHEN Wei-ming, FAN Cheng-xin, et al. Ecological simulation of blue algal bloom in Meiliang Bay, Taihu Lake and analysis of its harness strategies[J]. Journal of Lake Science, 1998, 10(4): 53-60. (in Chinese))

[2] 沈建国.微囊藻毒素的污染现状、毒性机理和检测方法[J].预防医学情报杂志,2001,17(1):10-11. (SHENG Jian-guo. Pollution status, toxicity mechanism and detection method of the microcystin[J]. Journal of Preventive Medicine Information, 2001, 17(1): 10-11. (in Chinese))

[3] RHEE G Y,GOTHAM I J.The effect of environmental factorson phytoplankton growth[J] . Limnol Oceanogr,1981,26(4) :649-659.

[4] SHIMIZU T,KUDO K,NASU Y. A kinetic model for algae phosphate uptake and growth[J] . Journal of Japan Society on Water Environment,1992,15(7) :450-455.

[5] STOEKNER J G,SHORTREED K S. Response of anabaena and synechococcus to manipulation of nitrogen :phosphorus ratios in a lake fertilization experiment [J] . Limnol Oceanogr,1988,33(6) :1348-1361.

[6] 金相灿. 中国湖泊富营养化[M] .北京 中国环境科学出版社,1990 :109.

[7] 郑建军,钟成华,邓春光. 试论水华的定义[J] . 水资源保护,2006,22(5) :45-47. (ZHENG Jian-jun,ZHONG Chun-guang,DENG Chun-guang. Discussion on definition of algal bloom [J] . Water Resources Protection,2006,22(5) :45-47. (in Chinese))

[8] MICHAEL J M,HELMUT M,RICHARD C D. Nutrient-determined dominance in multispecies chemostat cultures of diatoms[J] . Limnol Oceanogr,1979,24(2) :298-315.

[9] GOTHAM I J,RHEE G Y. Comparative kinetic studies of phosphate-limited growth and phosphate uptake in phytoplankton in continuous culture[J] . J Pheol,1981,17 :309-314.

[10] GROVER J P. Phosphorus-dependent growth kinetics of 11 species of freshwater algae[J] . Limnol Oceanogr,1989,34(2) :341-348.

[11] 李一平,逢勇,吕俊,等. 太湖富营养化的驱动因子分析[J] . 河海大学学报 :自然科学版,2004,32(6) :644-647. (LI Yi-ping, PANG Yong,LV Jun,et al. Analysis of driving factors to eutrophication in Taihu Lake[J] . Journal of Hohai University :Natural Sciences, 2004,32(6) :644-647. (in Chinese))

[12] 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[] . 西北农林科技大学学报 :自然科学版, 2005,33(6) :31-35. (YI Wen-li,WANG Guo-dong,LIU Xuan-wei. Effects of N/P ratios on the growth and some biochemical constituents of Microcystis aeruginosa[J] . Journal of Northwest A & F University :Natural Science Edition,2005,33(6) :31-35. (in Chinese))

Comparative study on phosphorus reserve and release process and growth of two kinds of algae

WU Shan, ZHANG Xiao-ping, ZHANG Fu-ping

(College of Architecture and Civil Engineering , Beijing University of Technology , Beijing 100124, China)

Abstract : The phosphorus reserve capacity and nutrition utilization characteristics of *Microcysti aeruginosa* and *Chlorella vulgarism* were comparatively studied with different ratios of nitrogen and phosphorus in static laboratory tests based on their growth. The results show that the two kinds of algae both have the ability to absorb the phosphorus in water and store it in their bodies during their initial growing periods. With their growth and changes in their environment, the algae will timely release the phosphorus in the body into the water for the breeding of cells. However, the phosphorus release and growth patterns of *Microcysti aeruginosa* and *Chlorella vulgarism* under these nutrition conditions with different ratios of nitrogen and phosphorus exhibit certain differences. Accordingly, when the phosphorus is regarded as the monitoring index for whether water bloom will occur or not, the hidden characteristics of the phosphorus in the water should be considered. The phosphorus concentration in the water should always be kept at a low level, even in the low-speed growing period, so as to ensure the reduction of the probability of water bloom occurrence.

Key words : *Microcystic aeruginosa* ; *Chlorella vulgaris* ; preceding reserve of phosphorus ; nitrogen/phosphorus ratio ; water bloom