

DOI: 10.3880/j.issn.1004-6933.2019.01.016

铁在不同磷源条件下对铜绿微囊藻生长与产毒的影响

王 举, 陈 荣, 陈 静, 沈 莹

(西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 陕西 西安 710055)

摘要: 针对磷和微量元素铁对藻类生长的共同作用, 研究不同磷源下藻细胞生长与产毒过程中磷与铁的共同作用特性。试验选用产毒铜绿微囊藻为藻种, 以硝态氮为氮源, 分别以磷酸氢二钾 (K_2HPO_4)、小分子有机磷甘油磷酸钠 (NaGly) 和大分子有机磷卵磷脂 (LEC) 为磷源, 同步考察不同铁离子 (Fe^{3+}) 浓度下藻类的生长与产毒表现。结果表明: K_2HPO_4 和 NaGly 是藻细胞优先利用的磷源, 在这两种磷源条件下, 藻细胞的生长与产毒均得到促进, 藻细胞平均粒径随培养时间保持稳定; LEC 不利于藻细胞的生长与产毒, 且藻细胞平均粒径波动较大。在对数增长期中, 叶绿素 a 与胞内藻毒素 (MC-LR) 呈现正相关关系, 在培养过程中藻细胞胞内总磷与藻液中总的碱性磷酸酶活性并未显现出相关性。不同磷源下微量元素铁对藻细胞的生长状况影响不同, NaGly 与铁的协同作用更有利于藻细胞的生长与产毒。

关键词: 铜绿微囊藻; 微量元素铁; 有机磷; 无机磷; 藻毒素

中图分类号: X524

文献标志码: A

文章编号: 1004-6933(2019)01-0087-08

Effect of iron on growth and toxicity in production of *Microcystis aeruginosa* under different phosphorus sources // WANG Ju, CHEN Rong, CHEN Jing, SHEN Ying (School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture & Technology, Xi'an 710055, China)

Abstract: Aiming at the interaction of phosphorus and trace element iron on the growth of algae, the interaction characteristics of phosphorus and iron in the growth and toxicity of algal cells were studied under different phosphorus sources. *Microcystis aeruginosa* was selected as algae species, and nitrate nitrogen was used as nitrogen source. Dipotassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4), small molecular organic phosphorus sodium glycerophosphate (NaGly) and macromolecular organophosphorus lecithin (LEC) were used as phosphorus sources respectively. The growth and toxicity of algae under different iron (Fe^{3+}) concentrations were simultaneously investigated. The results showed that K_2HPO_4 and NaGly were the phosphorus sources preferentially used by algae cells. Under these two phosphorus sources, the growth and toxicity of algae cells were promoted, and the average particle size of algae cells remained stable with the incubation time. LEC was not conducive to the growth and toxicity of algae cells, and the average size of algae cells fluctuated greatly. During logarithmic growth period, chlorophyll a was positively correlated with intracellular algae toxin (MC-LR), but there was no correlation between total intracellular phosphorus and total alkaline phosphatase activity (APA) in algae solution. The effect of trace element iron on the growth of algae cells was different under different phosphorus sources and the synergistic effect of NaGly and iron was more conducive to the growth and toxicity of algae cells.

Key words: *Microcystis aeruginosa*; trace element iron; organic phosphorus; inorganic phosphorus; algae toxin

水体富营养化现象日益严重, 已经成为全球面临的水污染问题之一。水体富营养化过程中蓝藻属的微囊藻是最为常见的一种有害藻种^[1], 其繁殖速度快、易在富营养化水体中大量生长且伴随有藻毒素的产生危害人体健康。以往研究发现氮磷等营养

物质超标是引发水体富营养化问题的重要原因^[2], 然而在降低了氮磷浓度的自然水体中水华现象的爆发仍然屡见不鲜^[3]。自然水体中磷主要以可溶性有机磷和悬浮态磷的形式存在, 生物可直接利用的可溶性无机磷的含量很低, 往往不能满足藻细胞对

基金项目: 水污染控制与治理科技重大专项(2012ZX07313-001-002); 陕西省青年科技新星项目(2013KJXX-55)

作者简介: 王举(1991—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水体富营养化。E-mail: 1350657797@qq.com

通信作者: 陈荣, 教授。E-mail: chenrong@xauat.edu.cn

磷的需求^[4]。在湖泊蓝藻水华形成的初期,可溶性无机磷含量往往不足,溶解性有机磷将会作为补充磷源,促进水华蓝藻的生长^[5-6],因此藻类对有机磷的利用逐渐引起人们的关注^[7-8]。随着研究的深入,发现微量金属元素也会成为藻类生长的关键影响因素^[9]。铁(Fe)作为藻类生长发育所必需的主要微量营养元素之一,在光合作用、呼吸作用、固氮作用、蛋白质与核酸合成等生理代谢过程的电子传递以及酶促反应中发挥着极为重要的作用^[10-11],同时铁元素能够影响藻毒素的形成。以往研究中以铁元素单独作用或者铁与磷共同作用对藻类生长与产毒影响的研究较多^[9],而对有机磷与铁共同作用的探讨稍显不足。本文探讨微囊藻在不同磷源利用过程中铁元素的作用特性,研究铁与磷的共同作用对藻细胞生长与产毒的影响,为抑制蓝藻暴发、解决水体富营养问题提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用藻种为产毒铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*),购置于中国科学院水生生物研究所,藻种编号为 FACHB-912。采用 BG-11 培养基在恒温光照培养箱中培养,培养温度为(25 ± 1)℃,光照为 3 000 lx,光暗时间分配为 12 h: 12 h。

实际水体中有机磷化合物的形态非常复杂,人们对其具体的组分和比例知之甚少^[12],通常认为碱性磷酸酶可以水解一些小分子有机磷和部分大分子有机磷,因此以小分子有机磷和大分子有机磷的研究较多^[13-14]。本研究选择 3 种具有代表性的磷:无机磷磷酸氢二钾(K₂HPO₄),小分子有机磷甘油磷酸钠(C₃H₇Na₂O₆P · 5.5H₂O,简称为 NaGly)和大分子有机磷卵磷脂(C₄₀H₈₂NO₉P,简称为 LEC),试验药品均为国产科密欧分析纯试剂。

1.2 培养基设置

培养基除氮、磷、铁元素外,其他均依照 BG-11 的营养条件来设置。为保证培养基中各营养盐浓度恒定,先按照 BG-11 培养基配方配置原液,然后按比例取一定体积原液混合后灭菌,再分别加入灭菌后的氮、磷、铁配置液,最后用经过灭菌的超纯水定容至 500 mL。由于再生水补水已经成为当前城市景观水体补水的重要方式,因此氮浓度设置依据 GB 18918—2002《城镇污水处理厂污染物排放标准》中Ⅱ级 A 排放标准来设定($\rho(\text{TN}) \leq 15 \text{ mg/L}$),试验中以 NaNO₃为氮源设置硝氮质量浓度为 10 mg/L,分别以 3 种不同形态磷为磷源,总磷质量浓度设置为 0.1 mg/L。铁元素用柠檬酸铁铵配置,在本研究对

西安市城市景观水体的调研中发现,其中微量元素铁的质量浓度相对较高,从几十至几百 μg/L,在实验室研究中发现高磷条件下铁最佳作用浓度范围为 500 ~ 1 000 μg/L,设置 3 个浓度梯度,分别为 50 μg/L、500 μg/L 和 1 000 μg/L。

1.3 饥饿及接种

将正常培养至对数期的藻种在 25℃、6 000 r/min 条件下离心 10 min,去掉上清液后用 15 mg/L 的 NaHCO₃洗涤 3 次后保留离心得到的藻细胞,接种至饥饿处理的培养基(不含氮、磷、铁元素)预培养 7 d。预培养结束后按上述方法再次离心只留下藻细胞后,接入配置不同铁浓度梯度培养基中,接种初始藻密度约为 2 × 10⁵ 个/mL,初始培养时培养液总体积为 500 mL,培养瓶是总容积为 1 000 mL 的广口锥形瓶。接种好的培养瓶置于设置好的培养箱中培养,为确保试验准确,每个样品设 3 个平行样,每天手动摇 3 ~ 4 次,并将各培养瓶随机放置,以减少光强对藻类生长的影响。

1.4 指标测定

1.4.1 藻密度、藻细胞平均粒径及增长率

藻密度及藻细胞平均粒径的测定采用细胞计数分析仪(Cellometer Auto T4,达科为,中国),每次测定取样量为 1 mL。试验过程中,从接种至结束每隔 1 d 测定 1 次藻密度。藻细胞比增长率计算公式为

$$\mu = \frac{1}{t} \ln \frac{X_t}{X_0} \quad (1)$$

式中: X_t 为某一时间间隔终结时的藻细胞数量; X_0 为某一时间间隔开始时的藻细胞数量; t 为时间间隔。当连续 2 d 的 μ 小于 5% 时即认为藻细胞停止生长。

1.4.2 叶绿素 a 的测定

叶绿素 a 的测定采用乙醇提取法,每 2 d 测定一次,每次取 10 mL 藻液。将取出的藻液加入适量饱和碳酸镁混匀后经真空抽滤装置抽滤,将滤纸用剪刀剪碎后加入 5 mL 体积分数为 90% 的乙醇,置于 4℃ 冰箱中,黑暗提取 8 ~ 12 h,离心后取上清液经分光光度计测定。

1.4.3 藻细胞中溶解性总磷浓度

取一定量的藻液,6 000 r/min 离心 10 min,弃上清液留下藻细胞加入 5 mL 超纯水,经 5% 过硫酸钾消解后,以抗坏血酸为还原剂采用磷钼蓝比色法进行测定。

1.4.4 碱性磷酸酶活性

碱性磷酸酶活性(alkaline phosphatase activity, APA)与水体富营养化程度呈正相关,当

溶解性无机磷含量很低时碱性磷酸酶才会被激活,高浓度的溶解性无机磷对 APA 几乎无影响,因此 APA 的检测有助于分析藻细胞对磷源的吸收转化状况^[15-16]。

取 5 mL 藻样,加入已经灭菌的比色管中,随后加入 1 mL Tris-HCl 缓冲液(pH 值 8.5),摇匀后加入 1 mL 反应底物对硝基苯磷酸二钠(p-Nitrophenyl phosphate, PNP-P)。将比色管避光处理放在 30℃ 的生化培养箱中,反应 6 h,用 1 mL 的 0.5 mol/L 的 NaOH 溶液来终止反应。用紫外分光光度计在 410 nm 处测定反应产物对硝基苯酚(p-Nitrophenol, PNP)的产生量,并计算单位时间所产生的 PNP,并以此作为细胞 APA 的单位。

1.4.5 胞内藻毒素(MC-LR)

标准藻毒素样品(纯度 98%)购置于 Sigma,按 GB/T 20466—2006《水中微囊藻毒素的测定》中藻毒素的测定方法测定,采用液相色谱装置测定(LC-2000,日立,日本)藻毒素含量,分离柱尺寸为 250 mm × 4.6 mm(SB-C18,安捷伦,美国)。从培养第 2 天开始每隔 1 天测定一次藻细胞藻毒素含量,第 2 天藻液取样量为 15 mL,以后每次为 10 mL,样品的制备参考 Long^[17]的制备方法。

1.5 数据分析

所有试验数据均采用 Excel 2010 处理,采用 Origin9.1 绘图,数据统计分析采用 SPSS20.0,*P* 值表明各组数据之间是否存在显著性差异,*P* < 0.05 有显著性差异,*P* > 0.05 无显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 藻细胞生长状况

2.1.1 不同磷源对藻细胞生长的影响

图 1~3 为不同磷源条件下铜绿微囊藻的细胞密度、叶绿素 a 质量浓度和细胞平均粒径变化情况。由图 1~3 可以看出,以 K_2HPO_4 与 NaGly 为磷源时,藻细胞生物量间并无显著性差异,而以 LEC 为磷源时存在显著性差异(*P* < 0.05)。以 K_2HPO_4 为磷源时藻细胞的平均粒径变化较为平缓,波动性不大;以 NaGly 为磷源时藻细胞平均粒径有较小波动;而以 LEC 为磷源时藻细胞的平均粒径波动性较大。即在 K_2HPO_4 与 NaGly 为磷源的条件藻细胞的生存状态更为稳定,磷源越容易被利用越有利于藻细胞的生长。以 K_2HPO_4 与 NaGly 为磷源时,在培养期间藻细胞数量都在不断增加,最大藻细胞数量分别可达到 6.02×10^6 个/mL 和 6.43×10^6 个/mL,而以 LEC

— $\rho(\text{Fe})=1\ 000\ \mu\text{g/L}$ — $\rho(\text{Fe})=500\ \mu\text{g/L}$ — $\rho(\text{Fe})=50\ \mu\text{g/L}$

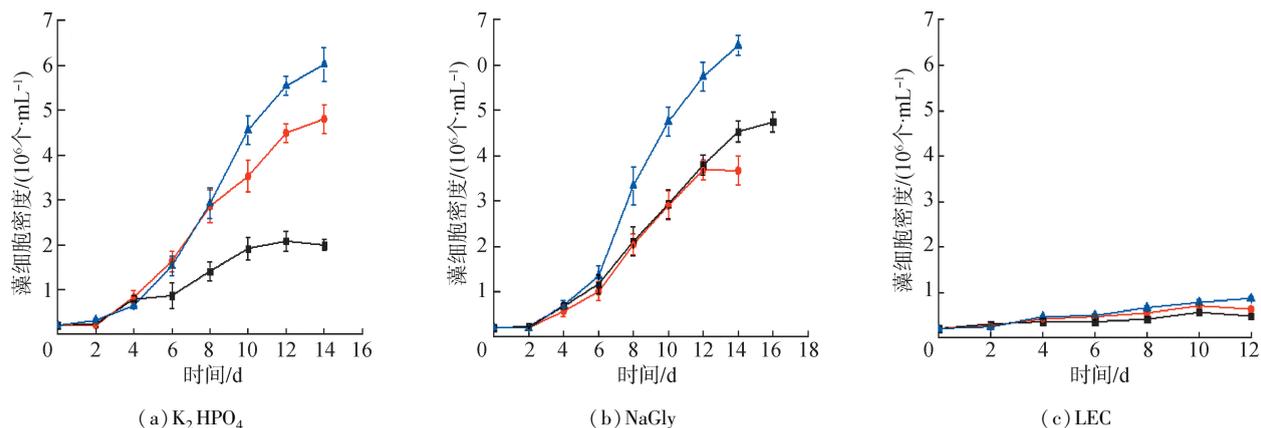


图 1 不同磷源下铜绿微囊藻细胞密度

— $\rho(\text{Fe})=1\ 000\ \mu\text{g/L}$ — $\rho(\text{Fe})=500\ \mu\text{g/L}$ — $\rho(\text{Fe})=50\ \mu\text{g/L}$

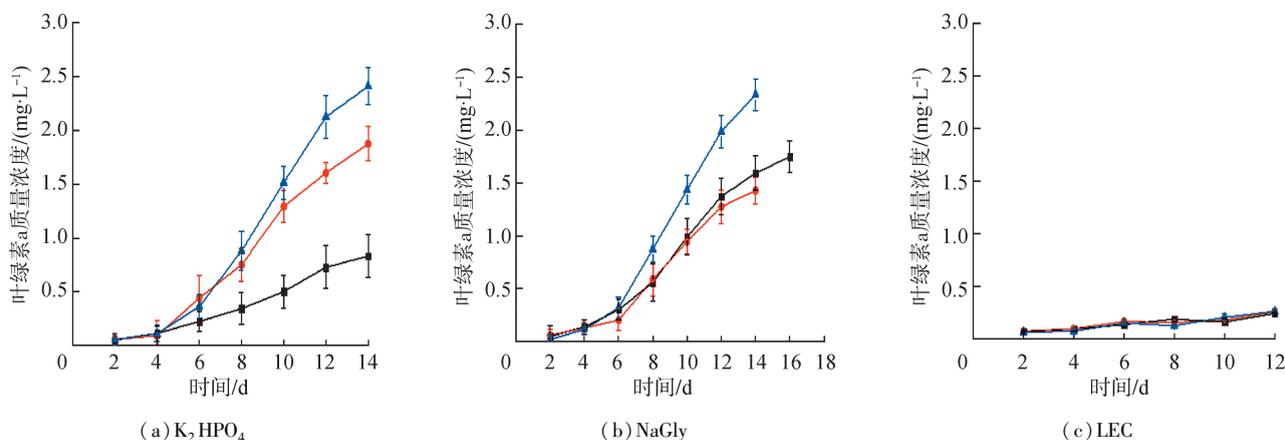


图 2 不同磷源下铜绿微囊藻叶绿素 a 质量浓度

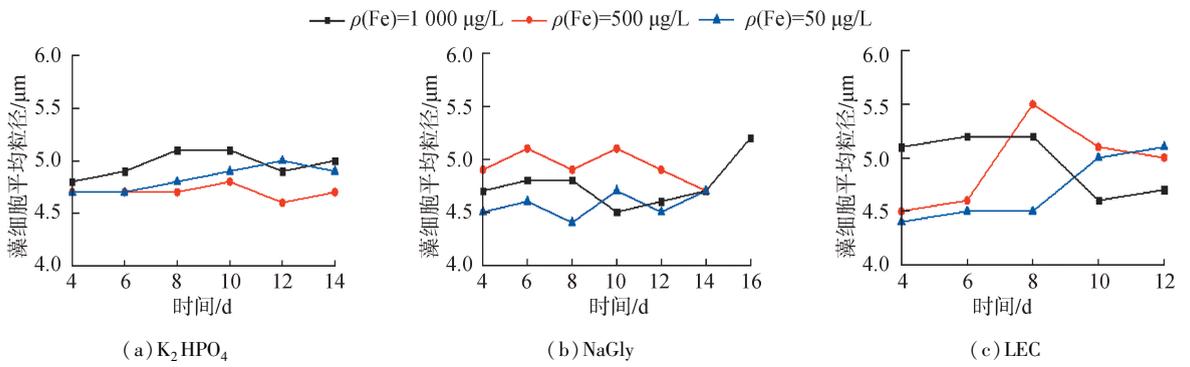


图3 不同磷源下铜绿微囊藻细胞平均粒径

为磷源时,在整个培养期间藻细胞数量只有少量增长。以往研究中发现正磷酸盐是最易吸收和利用的一种磷源,而小分子有机磷和大分子有机磷都需经过诸如碱性磷酸酶等水解转化为磷酸盐后方可被利用,并且小分子有机磷比大分子有机磷更容易转化为磷酸盐。但本研究发现 K_2HPO_4 与 NaGly 对藻细胞生长的作用并无显著性差异,而只与 LEC 之间存在显著性差异,即藻类在吸收磷时,藻细胞对 K_2HPO_4 和 NaGly 的利用效率较高,而对 LEC 的利用率较低。从图 2 叶绿素 a 浓度的变化趋势可以看出,在以 K_2HPO_4 与 NaGly 为磷源时,叶绿素 a 质量浓度与藻细胞生物量的变化趋势基本一致,经相关性分析发现二者之间显著相关,而在以 LEC 为磷源时叶绿素 a 质量浓度与藻细胞生物量间相关性较差。

K_2HPO_4 与 NaGly 对藻细胞生长(藻细胞数量与叶绿素 a 浓度)的影响并无显著性差异,其主要原因可能与微量元素铁相关, K_2HPO_4 可以被藻细胞直接吸收利用,而微量元素铁促进了 NaGly 的吸收,使其更有利于藻细胞的生长。微量元素铁对 LEC 虽也有促进作用,但由于 LEC 较难被水解,因此促进效果并没有对 NaGly 的作用显著。以 K_2HPO_4 为磷源时,不同含量的铁对藻细胞生长的影响不同,随着铁含量的增加藻细胞数量呈现降低的趋势。在试验过程中发现, K_2HPO_4 为磷源的培养液中有颗粒状物质(磷酸铁沉淀)出现,铁含量越高产生的沉淀就越多,藻细胞可利用的磷源就越少,藻细胞的生长受到限制;高铁条件下,藻细胞可利用的磷源相对较少,铁含量相对较多,有利于藻细胞的生长。在试验中还发现,随着试验的进行磷酸铁沉淀在逐渐减少,其原因可能是随着试验的进行,培养液中藻细胞可直接利用的磷酸盐含量逐渐减少,当磷酸盐含量降低到一定量之后,磷酸铁沉淀作为磷源逐渐被藻细胞吸收利用。当有机磷作为磷源时未观察到沉淀产生,由于藻细胞会将有机磷吸附到细胞表面,水解产生的磷酸盐含量较少,可以被藻细胞直接吸收利用。

在以 NaGly 为磷源时,低浓度的铁显著促进了藻细胞的生长,高浓度的铁对藻细胞数量的影响差异性不大,即高铁浓度也会抑制藻细胞的生长但抑制效果较弱。

2.1.2 不同铁浓度对藻细胞生长的影响

图 4 为不同磷源下藻细胞比增长速率与铁浓度关系。由图 4 可以看出,藻细胞在 K_2HPO_4 与 NaGly 为磷源条件下细胞比增长速率较大,且二者的比增长速率并无显著性差异,在 LEC 为磷源条件下比增长速率较小。在同一磷源条件下,微量元素铁对藻细胞比增长速率的影响并无显著性差异,都是随着铁浓度的减少,藻细胞的比增长速率逐渐增加,即在高氮低磷的条件下较低浓度的铁即可满足藻细胞生长的需求,而过高的铁浓度则会对藻细胞的生长产生抑制作用。其抑制作用的原因可能是因为藻细胞壁带有负电荷和一些含硫、氮和氧的官能团,它们较易与阳离子发生电荷吸引和进行螯合反应,使重金属沉积在藻细胞表面并通过细胞的生理过程转移到细胞内部,从而抑制藻类的光合作用、呼吸作用、酶的活性和生长^[18-19]。另外, Fe^{3+} 与磷酸盐易产生沉淀也是限制藻细胞生长的原因之一。

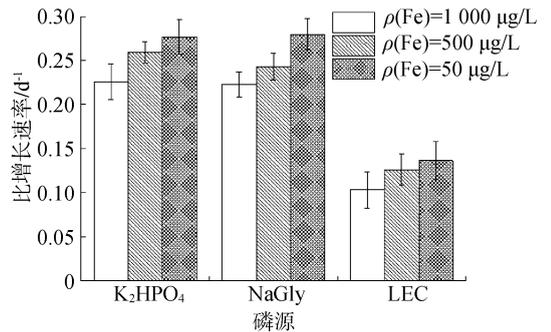


图4 不同磷源下藻细胞比增长速率与铁浓度关系

2.2 藻细胞胞内总磷及 APA 的变化

图 5 为不同磷源下胞内总磷浓度及 APA 变化。由图 5 可见,以 K_2HPO_4 为磷源时,藻液中总的 APA 在不断增加,不同的铁质量浓度对总的 APA 影响较

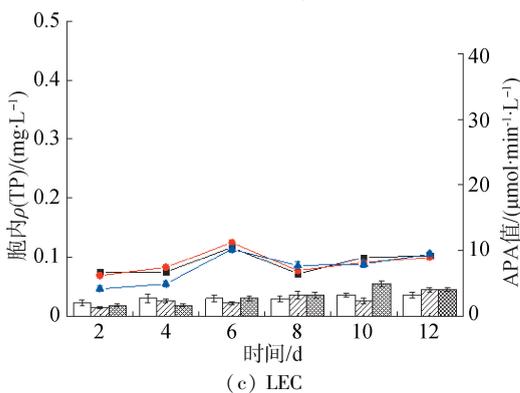
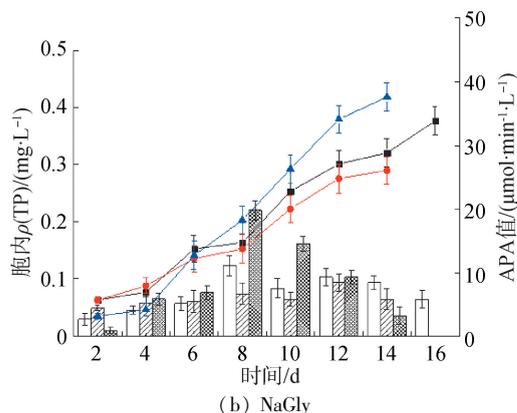
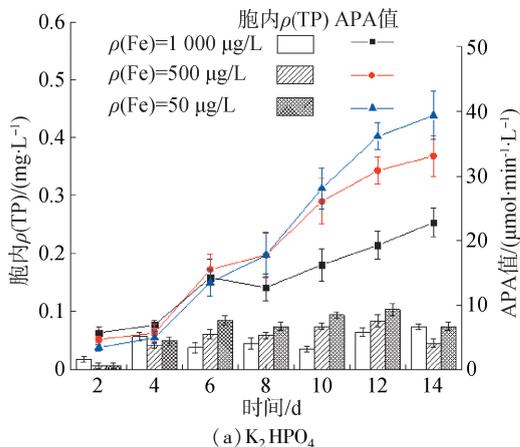


图5 不同磷源下胞内总磷质量浓度及 APA 变化

大,铁质量浓度越低藻液中总的 APA 越多,不同铁质量浓度下藻细胞中的胞内总磷逐渐增加趋于稳定,铁质量浓度越低越有利于胞内总磷的累积。以 NaGly 为磷源时,藻液中总的 APA 也在不断增加,其中 $\rho(\text{Fe})$ 为 $50 \mu\text{g/L}$ 时总 APA 最高, $\rho(\text{Fe})$ 为 $1000 \mu\text{g/L}$ 产生的 APA 高于 $\rho(\text{Fe})$ 为 $500 \mu\text{g/L}$ 条件下产生的 APA,藻细胞中胞内总磷呈现出先增大后减少的趋势,不同铁浓度下藻细胞胞内总磷的变化也有所差异, $\rho(\text{Fe})$ 为 $50 \mu\text{g/L}$ 时藻细胞胞内总磷的变化趋势最为显著,其次是 $\rho(\text{Fe})$ 为 $1000 \mu\text{g/L}$ 时。以 LEC 为磷源时藻液中总的 APA 波动性较大,不同的铁浓度未对 APA 产生显著性差异,藻细胞中的总磷呈现逐渐增加的趋势但增幅较小,不同的铁浓度对藻细胞中胞内总磷的影响较小。碱性磷酸酶属于胞外酶,其主要功能是从外界向细胞提供磷源,在细胞内磷

源相对充足时酶的活性比较低。研究^[20]显示,蓝藻在大分子有机磷作为磷源的情况下,培养基中的 APA 会迅速提高,而本研究中发现在 LEC 的培养条件下藻液中的 APA 较低,而在 K_2HPO_4 与 NaGly 培养条件下的 APA 在逐渐增多且增幅较大,但两者的 APA 并未出现显著性差异。APA 与磷营养水平之间呈明显的负相关关系,这种关系常被称作“抑制-诱导机制”^[21-22],而本研究未发现胞内总磷与 APA 的相关性,其主要原因可能与铁和磷的共同作用有关。

2.3 藻细胞产毒状况

2.3.1 培养过程中藻毒素产量

本研究所用的铜绿微囊藻在生长过程中主要产生 3 种藻毒素异构体: MC-RR、MC-YR 和 MC-LR。在试验过程中发现 MC-RR 和 MC-YR 浓度非常低,几乎检测不到,我国 GB 3838—2002《地表水环境质量标准》中规定 MC-LR 浓度限定值为 0.001 mg/L ,因此主要研究 MC-LR 在藻细胞生长过程中的变化。

图 6 为不同磷源下铜绿微囊藻毒素浓度。由图 6 可见,藻毒素浓度在 3 种不同磷源条件下培养过程中呈现出先增加后减少的趋势。以 K_2HPO_4 为磷源时,微量元素铁对藻毒素产生了显著性差异,其中 $\rho(\text{Fe})$ 为 $500 \mu\text{g/L}$ 与 $\rho(\text{Fe})$ 为 $50 \mu\text{g/L}$ 时藻毒素浓度相接近, $\rho(\text{Fe})$ 为 $1000 \mu\text{g/L}$ 时藻毒素浓度显著偏低。以 NaGly 为磷源时, $\rho(\text{Fe})$ 为 $1000 \mu\text{g/L}$ 与 $\rho(\text{Fe})$ 为 $500 \mu\text{g/L}$ 时产生的藻毒素浓度相接近,而 $\rho(\text{Fe})$ 为 $50 \mu\text{g/L}$ 时的藻毒素浓度显著高于其他浓度。以 LEC 为磷源时,不同铁浓度条件下藻毒素浓度的变化差异性较大, $\rho(\text{Fe})$ 为 $50 \mu\text{g/L}$ 时藻毒素浓度最高但波动性较大, $\rho(\text{Fe})$ 为 $500 \mu\text{g/L}$ 时藻毒素浓度较低但在持续增加, $\rho(\text{Fe})$ 为 $1000 \mu\text{g/L}$ 时藻毒素浓度较低呈现出先增长后降低的趋势。以往研究发现一定的铁浓度有利于藻毒素的产生,而过高或过低的铁浓度都会对藻毒素产生抑制作用^[23],而本研究与此有所差异,其原因可能与磷源类型以及磷的质量浓度有关。

2.3.2 不同磷源条件下叶绿素 a 与胞内藻毒素的相关性

表 1 为藻细胞叶绿素 a 与胞内藻毒素 (MC-LR) 相关性分析结果。由表 1 可见,不同磷源与不同铁浓度条件下,藻细胞在对数增长期(藻细胞比增长率大于 5% 的阶段)时叶绿素 a 质量浓度与胞内藻毒素 (MC-LR) 呈现正相关关系且相关性较高,这与以往的研究结果相一致^[24]。但当藻细胞比增长率小于 5% 时,叶绿素 a 的浓度虽还有少量

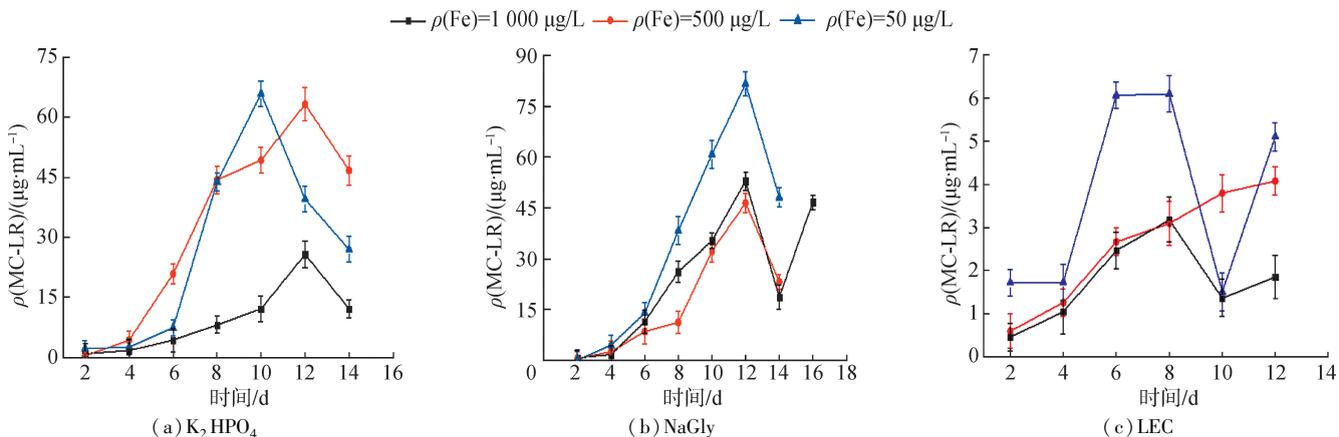


图6 不同磷源下铜绿微囊藻毒素质量浓度

增加但藻毒素浓度却已经减少,即藻细胞产生藻毒素的衰减过程要早于藻细胞中叶绿素 a 的衰减过程。

表1 藻细胞叶绿素 a 与胞内藻毒素 (MC-LR) 相关性分析

磷源	$\rho(\text{Fe})/(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	线性方程	R^2	P
K_2HPO_4	1000	$y = 34.645x - 2.583$	0.934	$P < 0.01$
	500	$y = 42.619x - 2.244$	0.949	$P < 0.01$
	50	$y = 47.518x - 3.059$	0.952	$P < 0.01$
NaGly	1000	$y = 39.164x - 1.295$	0.982	$P < 0.01$
	500	$y = 36.400x - 2.303$	0.957	$P < 0.01$
	50	$y = 41.685x + 0.027$	0.998	$P < 0.01$
LEC	1000	$y = 23.823x - 1.091$	0.960	$P < 0.05$
	500	$y = 26.664x - 1.383$	0.931	$P < 0.01$
	50	$y = 54.872x - 1.894$	0.926	$P < 0.05$

2.3.3 不同磷源条件下的特定产毒量

藻细胞的特定产毒量是评价藻细胞在生长过程中生成藻毒素的一个重要指标,它能更直观地反映出环境因素对于藻细胞产毒的影响。图7为不同磷源下藻细胞特定产毒量,可以看出, K_2HPO_4 与NaGly更有利于藻毒素的生成。以 K_2HPO_4 为磷源时,微量元素铁对藻毒素的生成产生了显著影响, $\rho(\text{Fe})$ 为500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时最有利于藻毒素的产生,此时藻细胞的数量也较高,因此总的藻毒素浓度较高。 $\rho(\text{Fe})$ 为1000 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时,藻细胞产生的藻毒素浓度最少,与LEC中藻细胞产毒量相接近,此时藻细胞数量最低,因此总的藻毒素含量也最低。 $\rho(\text{Fe})$ 为50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时,藻细胞产毒量较高与NaGly中藻细胞产毒量相接近,但由于藻细胞数量较高,因此总的产毒量较高。以NaGly为磷源时,不同铁浓度下的藻细胞产毒量相接近,其中 $\rho(\text{Fe})$ 为500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时藻细胞产毒量最低, $\rho(\text{Fe})$ 为50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时藻细胞产毒量最高,此时藻细胞数量也最高,因此总的藻毒素含量最高,甚至超过了 K_2HPO_4 为磷源条件下的藻毒素含量。以LEC为磷源时,随着铁浓度的降低藻细胞中藻毒素浓度却在增加,即低铁浓度条件下更有利于

藻毒素的产生。总的来说,以 K_2HPO_4 为磷源时,不同浓度的铁对藻细胞产毒量影响的差异性较大,即铁元素在其中发挥着重要作用;以NaGly为磷源时,藻细胞产毒量较高,不同浓度的铁对其影响较弱;以LEC为磷源时,藻细胞产毒量最低,不同的铁浓度对其产毒量影响较大,低铁浓度条件下更有利于藻毒素的产生。

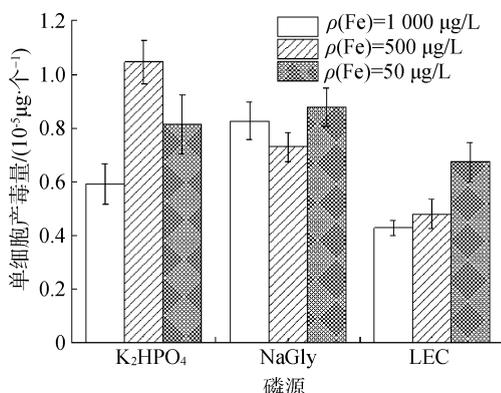


图7 不同磷源下藻细胞特定产毒量

3 结论

a. K_2HPO_4 与NaGly对藻细胞生长的促进作用显著, K_2HPO_4 条件下高浓度的铁会显著限制藻细胞的生长。

b. 以 K_2HPO_4 为磷源时, $\rho(\text{Fe})$ 为500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时最有利于单细胞的产毒;以NaGly为磷源时,单细胞的产毒量较大,不同铁浓度间的产毒量差异性不大;以LEC为磷源时,单细胞的产毒量最少,但低浓度铁有利于单细胞的产毒。

c. 在对数增长期的培养阶段,藻细胞中的叶绿素 a 与胞内藻毒素呈现较强的线性相关性。

d. 在不同磷源与微量元素铁的条件下,藻细胞胞内总磷与APA并未出现相关性。

e. NaGly与铁的共同作用对藻细胞生长与产毒的影响,在一定条件下比 K_2HPO_4 与铁对藻细胞生

长与产毒的影响更为显著。因此,对以小分子有机磷为主要磷源水体的富营养化应更多关注微量元素铁对其的影响。

参考文献:

- [1] HUANG C, WANG X, YANG H, et al. Satellite data regarding the eutrophication response to human activities in the plateau lake Dianchi in China from 1974 to 2009 [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 1(1): 485-486.
- [2] SOLIS M, PONIEWOZIK M, MENCHEL R. Bloom-forming cyanobacteria and other algae in selected anthropogenic reservoirs of the Leczna-Wlodawa Lakeland [J]. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 2009, 38 (Sup2): 71-78.
- [3] 谭啸,戴凯文,段志鹏,等. 蔡对铜绿微囊藻和聚球藻生长及叶绿素荧光影响的比较[J]. *河海大学学报(自然科学版)*, 2018, 46(2): 115-121. (TAN Xiao, DAI Kaiwen, DUAN Zhipeng, et al. Comparison of the effects of naphthalene on the growth and chlorophyll fluorescence of *Microcystis aeruginosa* and *Synechococcus* sp. [J]. *Journal of Hohai University (Natural Sciences)*, 2018, 46(2): 115-121. (in Chinese))
- [4] PAERL H W, XU H, MCCARTHY M J, et al. Controlling harmful cyanobacteria blooms in a hyper-eutrophic lake (Lake Taihu, China): the need for a dual nutrient (N & P) management strategy [J]. *Water Research*. 2011, 45: 1973-1983.
- [5] WANG Z C, LI D H, LI G W, et al. Mechanism of photosynthetic response in *Microcystis aeruginosa* PCC7806 to low inorganic phosphorus [J]. *Harmful Algae*, 2010, 9(6): 613-619.
- [6] LI J, WANG Z, CAO X, et al. Effect of orthophosphate and bioavailability of dissolved organic phosphorous compounds to typically harmful cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2015, 92 (1/2): 52-58.
- [7] BAI F, LIU R, YANG Y, et al. Dissolved organic phosphorus use by the invasive freshwater diazotroph cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii* [J]. *Harmful Algae*, 2014, 39: 112-120.
- [8] LI J, WANG Z, CAO X, et al. Effect of orthophosphate and bioavailability of dissolved organic phosphorous compounds to typically harmful cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2015, 92 (1/2): 52-58.
- [9] CHEN R, LEI Z, JI J, et al. On the effect of Fe(III) on proliferation of *Microcystis aeruginosa* at high nitrate and low chlorophyll condition [J]. *Journal of Environmental*

Sciences, 2017, 52(2): 105-110.

- [10] BOYD P W, LAW C S, WONG C S, et al. The decline and fate of an iron-induced subarctic phytoplankton bloom [J]. *Nature*, 2004, 428: 549-553.
- [11] GEIDER R J, LAROCHE J. The role of iron in phytoplankton photosynthesis, and the potential for iron-limitation of primary productivity in the sea [J]. *Photosynthesis Research*, 1994, 39: 275-301.
- [12] NANNY M A, KIM S, MINEAR R A. Aquatic soluble unreactive phosphorus: HPLC studies on concentrated water samples [J]. *Water Research*, 1995, 29(9): 2138-2148.
- [13] 邹迪,肖琳,杨柳燕,等. 不同形态磷源对铜绿微囊藻与附生假单胞菌磷代谢的影响[J]. *环境科学*, 2005, 26(3): 118-121. (ZOU Di, XIAO Lin, YANG Liuyan, et al. Effects of phosphorus sources of different forms on phosphorus metabolism of *Microcystis aeruginosa* and *Adhesive Pseudomonas* sp [J]. *Environmental Science*, 2005, 26(3): 118-121. (in Chinese))
- [14] 张民,史小丽,蒋丽娟,等. 两种外源性磷及振荡对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)生长的影响[J]. *应用与环境生物学报*, 2002, 8(5): 507-510. (ZHANG Min, SHI Xiaoli, JIANG Lijuan, et al. Effects of two exogenous phosphorus and shake on the growth of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Chinese Journal of Applied Environment Biology*, 2002, 8(5): 507-510. (in Chinese))
- [15] BERMAN T. Alkaline phosphatases and phosphorus availability in Lake Kinneret [J]. *Limnology & Oceanography*, 1970, 15(5): 663-674.
- [16] 高光,高锡芸,秦伯强,等. 太湖水体中碱性磷酸酶的作用阈值[J]. *湖泊科学*, 2000, 12(4): 353-358. (GAO Guang, GAO Xiyun, QIN Boqiang, et al. Experimental Study on the PO_4^{3-} -P threshold of the alkaline phosphatase activity in Taihu Lake [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2000, 12(4): 353-358. (in Chinese))
- [17] LONG B M. Evidence that sulfur metabolism plays a role in microcystin production by *Microcystis aeruginosa* [J]. *Harmful Algae*, 2010, 9(1): 74-81.
- [18] 阎海,潘纲,霍润兰. 铜、锌和锰抑制月形藻生长的毒性效应[J]. *环境科学学报*, 2001, 21(3): 328-332. (YAN Hai, PAN Gang, HUO Runlan. Oxidic effects of copper, zinc and manganese on the inhibition of the growth of *closterium lunula* [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2001, 21(3): 328-332. (in Chinese))
- [19] 阎海,王杏君,林毅雄,等. 铜、锌和锰抑制蛋白核小球藻生长的毒性效应[J]. *环境科学*, 2001, 22(1): 23-26. (YAN Hai, WANG Xingjun, LIN Yixiong, et al. Toxic effects of Cu, Zn and Mn on the inhibition of *Chlorella pyrenoidosa*'s growth [J]. *Environmental Science*, 2001, 22

- (1):23-26. (in Chinese))
- [20] 王艳,唐海溶. 不同形态的磷源对球形棕囊藻生长及碱性磷酸酶的影响[J]. 生态科学,2006,25(1):38-40. (WANG Yan, TANG Hairong. Effects of different phosphorus on the growth and alkaline phosphatase activity in *phaeocystis globose* [J]. Ecologic Science, 2006,25(1):38-40. (in Chinese))
- [21] PETERSSON K. The availability of phosphorus and the species composition of the spring phytoplankton in Lake Erken[J]. International Review of Hydrobiology,2010,70(4):527-546.
- [22] CHROST R, SIUD W A, HALEMEJKO G Z. Long term studies on alkaline phosphatase activity (APA) in a lake with fish-aquaculture in relation to lake eutrophication and phosphorus cycle [J]. Archiv Fur Hydrobiologie,1984,70(Sup1):1-32.
- [23] 张宜峰,康瑞娟,丛威,等. 光生物反应器中光强和 Fe^{3+} 浓度对铜绿微囊藻生长和毒素合成的影响[J]. 过程工程学报,2007,7(6):1192-1196. (ZHANG Yifeng, KANG Ruijuan, CONG Wei, et al. Effects of intensity and Fe^{3+} concentration on *Microcystis aeruginosa* growth and miccystin production in a photobioreactor [J]. The Chinese Journal of Process Engineering, 2007, 7(6): 1192-1196. (in Chinese))
- [24] 倪利晓,陈春明,马艳艳. 镉胁迫对铜绿微囊藻的抑制作用及营养盐浓度对其的减缓效应[J]. 水资源保护, 2017,33(6):96-101. (Ni Lixiao, CHEN Chunming, MA Yanyan. Inhibitory effects of cadmium stress on *Microcystis aeruginosa* and the alleviation effects of nutrient concentrations[J]. Water Resources Protection, 2017, 33(6):96-101. (in Chinese))

(收稿日期:2018-01-23 编辑:王 芳)

(上接第 78 页)

- [45] HOU J, YOU G, XU Y, et al. Effects of CeO_2 nanoparticles on biological nitrogen removal in a sequencing batch biofilm reactor and mechanism of toxicity[J]. Bioresource Technology, 2015, 191:73-78.
- [46] PUAY N, QIU G, TING Y. Effect of Zinc oxide nanoparticles on biological wastewater treatment in a sequencing batch reactor [J]. Journal of Cleaner Production, 2015, 88:139-145.
- [47] WU D, SHEN Y, DING A, et al. Effects of nanoscale zero-valent iron particles on biological nitrogen and phosphorus removal and microorganisms in activated sludge [J]. Journal of Hazardous Materials, 2013, 262:649-655.
- [48] HOU J, YOU G, XU Y, et al. Impacts of CuO nanoparticles on nitrogen removal in sequencing batch biofilm reactors after short-term and long-term exposure and the functions of natural organic matter [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23:22116-22125.
- [49] CHEN Y, CHEN H, ZHENG X, et al. The impacts of silver nanoparticles and silver ions on wastewater biological phosphorous removal and the mechanisms [J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, 239/240:88-94.
- [50] 张磊,郎建峰,牛姗姗. 生物膜法在污水处理中的研究进展[J]. 水科学与工程,2010(5):38-41. (ZHANG Lei, LANG Jianfeng, NIU Shanshan. Biofilm research progress in wastewater treatment [J]. Water Sciences and Engineering Technology, 2010(5):38-41. (in Chinese))
- [51] HENZE M, Van LOOSDRECHT M C, EKAMA G A. Biological wastewater treatment [M]. Boca Raton: CRC Press, 2008.
- [52] SHENG Z, LIU Y. Effects of silver nanoparticles on wastewater biofilms [J]. Water Research, 2011, 45(18): 6039-6050.
- [53] HOU J, MIAO L, WANG C, et al. Inhibitory effects of ZnO nanoparticles on aerobic wastewater biofilms from oxygen concentration profiles determined by microelectrodes [J]. Journal of Hazardous Materials, 2014, 276:164-170.
- [54] MIAO L, WANG C, HOU J, et al. Response of wastewater biofilm to CuO nanoparticle exposure in terms of extracellular polymeric substances and microbial community structure [J]. Science of the Total Environment, 2017, 579:588-597.
- [55] BATTIN T J, BESEMER K, BENGTTSSON M M, et al. The ecology and biogeochemistry of stream biofilms [J]. Nature Reviews Microbiology, 2016, 14(4):251-263.
- [56] FLEMMING H C, WINGENDER J, SZEZWYK U, et al. Biofilms: an emergent form of bacterial life [J]. Nature Reviews Microbiology, 2016, 14(9):563-575.
- [57] GIL-ALLUE C, SCHIRMER K, TLILI A, et al. Silver nanoparticle effects on stream periphyton during short-term exposures [J]. Environmental Science and Technology, 2015, 49(2):1165-1172.
- [58] LIU J, TANG J, WAN J, et al. Functional sustainability of periphytic biofilms in organic matter and Cu^{2+} removal during prolonged exposure to TiO_2 nanoparticles [J]. Journal of Hazardous Materials, 2017, 279:68.
- [59] TANG J, ZHU N Y, ZHU Y, et al. Responses of periphyton to Fe_2O_3 nanoparticles: a physiological and ecological basis for defending nanotoxicity [J]. Environmental Science and Technology, 2017, 51(18):10797-10805.

(收稿日期:2018-08-28 编辑:彭桃英)