

山仔水库微囊藻营养盐增长潜力分析

苏玉萍 陈娜蓉 曾招平 张丽珍

(福建师范大学化学与材料学院, 福建 福州 350007)

摘要 从发生富营养化的福建省山仔水库分离出优势浮游植物微囊藻 SZ200307, 进行营养盐增长潜力试验. 探讨氮浓度、磷浓度及氮磷比对微囊藻 SZ200307 增长的影响, 判断磷是其增长的主要限制性营养盐因子.

关键词 营养盐, 微囊藻, 增长潜力, 浮游植物, 内陆水库

中图分类号 X 524(257); X 172; Q 949.22

文献标识码 A

水体富营养化是当前水环境的主要问题之一, 已引起国内外许多专家学者的关注^[1~4]. 近几年, 福建省内陆的许多水库相继出现了富营养化问题^[5,6]. 爆发水华的藻类主要是蓝藻门(*Cyanophyta*), 特别是微囊藻属和鱼腥藻属的藻类. 已有的研究表明, 水华微囊藻是福建省山仔水库发生水华时的优势藻种, 而且能产生藻毒素^[7]. 但是, 目前对于其爆发的机理还不完全清楚, 有必要对其生长的影响因子(包括光照、温度、营养盐、pH 值及其捕食者等)进行研究. 本文在分离出纯的微囊藻 SZ200307 的基础上, 从营养盐角度探讨氮、磷浓度及氮磷比对该微囊藻增长的影响, 为富营养化水域的防治提供参考.

1 实验部分

1.1 试验藻种及主要仪器

微囊藻 SZ200307, 分离自福建省山仔水库. 试验前先进行扩大和驯化培养 14 d 左右, 接种前将微囊藻 SZ200307 转接到新培养基培养 4 d. 达到同步生长后, 作为实验藻种. 250D 恒温光照培养箱, PM-2 型光度计, HY-2 调速多用振荡器, 723 分光光度计, KQ3200 超声波清洗器, 奥克巴斯光学显微镜.

1.2 培养基及培养方法

AGP 人工培养基, 参见文[8]. 以 AGP 人工培养基为基础培养基, 调整氮盐和磷盐的浓度. 试验分为氮梯度、磷梯度及低磷浓度 3 组. 起始接种量接近相同, 磷梯度、氮梯度组各设 5 个浓度梯度, 低磷浓度设 3 个浓度梯度和 1 个控制瓶, 试验瓶各 3 瓶取平均值. 在 100 mL 三角烧瓶中分别加入 30 mL 培养基, 无菌操作接入 1 mL 的藻种. 置于 250D 恒温光照培养箱中培养. 接种后的第 2 天开始记录现存量(计数法与测光密度法), 连续测定 14 d 左右, 直到增长率低于 5% 时终止培养, 计算微囊藻的增殖参数.

1.3 培养条件

培养条件: 照度为 $(2\ 500 \pm 250)$ lx, 温度为 (25 ± 1) °C, 亮暗比为 12/12, 振荡为 $2 \sim 3$ 次 $\cdot d^{-1}$, 转速为 $150\ r \cdot min^{-1}$, 每次转 5~10 min 左右.

1.4 藻类计数方法及藻类比增殖速率计算方法

本试验同时采用视野计数法和测定光密度^[9]两种方法测定生物量. 每天取出一定量的培养液(藻密度大时进行稀释), 经超声波短时间破碎后在显微镜下观察计数. 同时, 用分光光度计测出培养液在 663 nm 处的吸光度. 藻类比增殖速率可按式 $U = \ln(x_2/x_1)/(t_2 - t_1)$ 计算. 式中, U 为藻比增殖速率; x_2 为对比期终结时的藻类现在量; x_1 为对数期开始时的藻类现在量; $t_2 - t_1$ 为对数期间隔的天数.

收稿日期 2005-01-05

作者简介 苏玉萍(1972-), 女, 讲师, 博士研究生, 主要从事水环境生态方面的研究. E-mail: ypsu@fjnu.edu.cn

基金项目 福建省自然科学基金资助项目(D0310015); 福建省教育厅 A 类科研基金资助项目(JA03029)

2 试验结果讨论

2.1 水华微囊藻 SZ200307 藻细胞密度与吸光度相关性

将光学显微镜下计数得到的对数期细胞个数 (n), 与相应测得的吸光度 (A) 做标准曲线, 如图 1 所示. 细胞密度与其叶绿素含量对应的吸光度值呈直线关系 ($R^2 = 0.9987$), 其一元回归方程 $Y = 368.65X + 4.5729$ (Y 为样品藻细胞密度, X 样品藻细胞吸光度值). 视野记数法由于稀释的原因, 对数期读数工作量较大, 因此可通过测定藻溶液的光密度值来间接得到其细胞密度. 通过光密度值, 可分析不同营养条件对水华微囊藻 SZ200307 生长的影响.

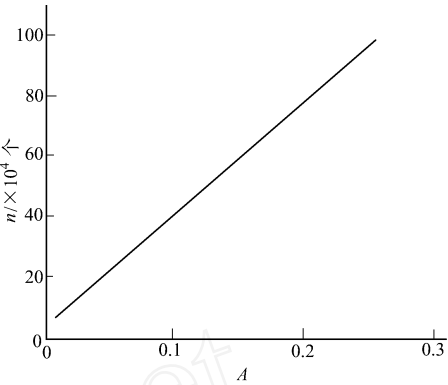


图 1 细胞个数与吸光度关系

2.2 磷梯度分析

表 1, 图 2 是不同磷酸盐浓度下, 微囊藻 SZ200307 生长情况. 接种后前 3 d 里, 微囊藻 SZ200307 处于适应期, 部分藻株由于不适应新环境出现死亡现象, 其藻光密度变化不大. 第 4 天开始进入对数增长

表 1 不同磷浓度下微囊藻 SZ200307 生长的最大吸光度和最大比增殖率

$C_N / \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	4.200	4.200	4.200	4.200	4.200	0.351	0.351	0.315	0.315
$C_P / \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0.561	0.358	0.258	0.179	0.159	0.028	0.018	0.010	-
N/P	7.5	11.7	16.3	23.5	26.4	11.7	15.7	31.5	
A_{\max}	0.400	0.395	0.392	0.314	0.306	0.052	0.034	0.016	0.012
U_{\max} / d^{-1}	0.252	0.251	0.250	0.229	0.224	0.165	0.122	0.047	0.018

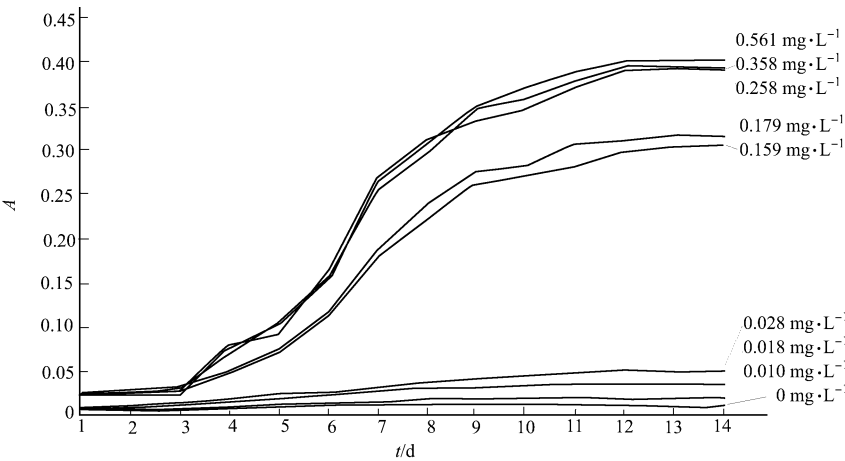


图 2 不同磷浓度值下微囊藻 SZ200307 生长曲线

期, 第 12 天左右进入静止期. 当正磷酸盐浓度较低时 (小于 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 水华微囊藻 SZ200307 几乎不增长, 停留在停滞期; 当正磷酸盐浓度大于 $0.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 水华微囊藻开始增殖. 随着正磷酸盐浓度的增加, 水华微囊藻 SZ200307 增长明显, 水中正磷酸盐浓度越高, 水华微囊藻 SZ200307 生长的停滞期越短, 生长速率快, 增殖周期明显缩短. 当正磷酸盐浓度达到 $0.258 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 水华微囊藻 SZ200307 增殖接近饱和. 继续增加正磷酸盐浓度, 也即氮/磷比 (N/P) 值继续减少, 水华微囊藻 SZ200307 增殖速率不再明显增加, 出现最大现存量和最大比增殖率的磷浓度 (C_N) 为 $0.561 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 此时的氮磷比值为 7.5, 这个比值接近于藻类细胞原生质中氮与磷的质量比值 7.2 : 1 (与自养生物光合作用氮与磷的质量比值 16 : 1 接近)^[10]. 磷浓度 (C_P) 继续增加是否出现过饱和吸收磷现象, 有待进一步研究.

磷梯度组实验说明, 当环境中氮浓度充足, 磷浓度较低的情况下, 添加外源性磷对水华微囊藻 SZ200307 的增长速率影响很大, 增殖率与磷浓度的增加是同步的. 当外界磷浓度提高到一定程度后, 加入外源性磷对水华微囊藻 SZ200307 的增长影响不大, 磷不再是其生长的限制性因子.

2.3 氮梯度分析

表 2, 图 3 是在不同氮浓度下, 微囊藻 SZ200307 生长情况. 从表 2 最大现存量和最大比增率可以看

出,当磷浓度(C_P 为 $0.179\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,A GP 人工培养基设定浓度)一定时,随着氮浓度的增加(N/P 值增加),意味着磷浓度相对减少,微囊藻SZ200307的比增殖率逐渐下降.其中, C_N 为 $2.103\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组的

表 2 不同氮浓度下微囊藻 SZ200307 生长的最大吸光度和最大比增殖率

$C_N/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.179	0.179	0.179	0.179	0.179
$C_P/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	1.074	1.338	2.103	2.919	4.200
N/P	6.0	7.5	11.7	16.3	23.5
A_{\max}	0.354	0.382	0.324	0.355	0.352
U_{\max}/d^{-1}	0.240	0.248	0.238	0.235	0.228

初始接种浓度较其他组相对低,因而静止期的光密度最大现存量相对也低.但仍可以从最大比增殖率比较生长状况.从图 3 可以看出,当磷浓度较高时,不同氮浓度下微囊藻 SZ200307 均生长良好,分别于第 3 天左右进入了对数增长期.在实验室控制条件下,该组实验中 N/P 值为 7.5 时,微囊藻 SZ200307 的长势最好,与磷梯度实验结果一致.当 N/P 值小于 7.5,即小于藻类细胞原生质中 N/P 值,微囊藻 SZ200307 生长良好.此时,磷浓度相对过剩,营养盐对微囊藻 SZ200307 生长的限制将转为以氮为主,微囊藻 SZ200307 是否具有固氮功能,有待进一步研究.从图 4 可看出,当温度、光照和营养盐($C_P=0.179$

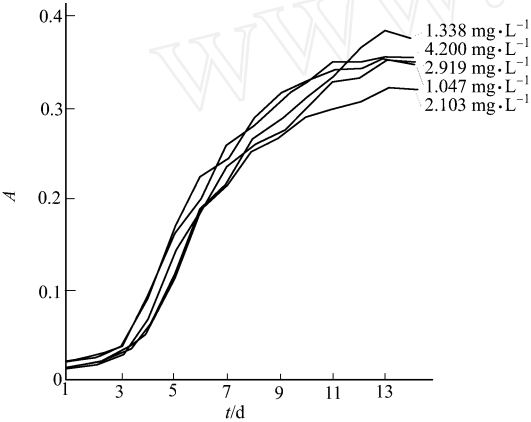


图 3 不同氮浓度微囊藻 SZ200307 生长曲线

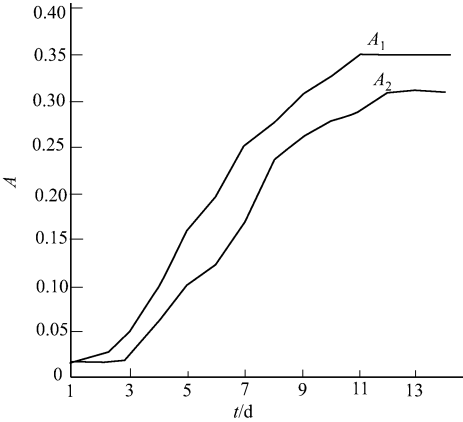


图 4 不同初始藻密度下微囊藻 SZ200307 生长曲线

微囊藻, $C_N=4.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)相同时,由于初始藻密度不同($A_1=0.022$, $A_2=0.012$),微囊藻 SZ200307 生长曲线呈现不同特征.当起始藻密度较低时,达到静止期的时间相对较长,最大现存量也较低.但进入对数生长期后,生长速率基本相同(最大比增殖率分别为 0.228 和 0.229),因而高的初始藻密度会加快藻细胞大量繁殖.这可能也是藻密度较高的水体容易暴发水华的原因之一.

3 水库年际不同的季节氮磷浓度

图 5 是山仔水库 1996 年建库至 2003 年来,丰水期(6~8 月),平水期(3~4 月,9~10 月),枯水期

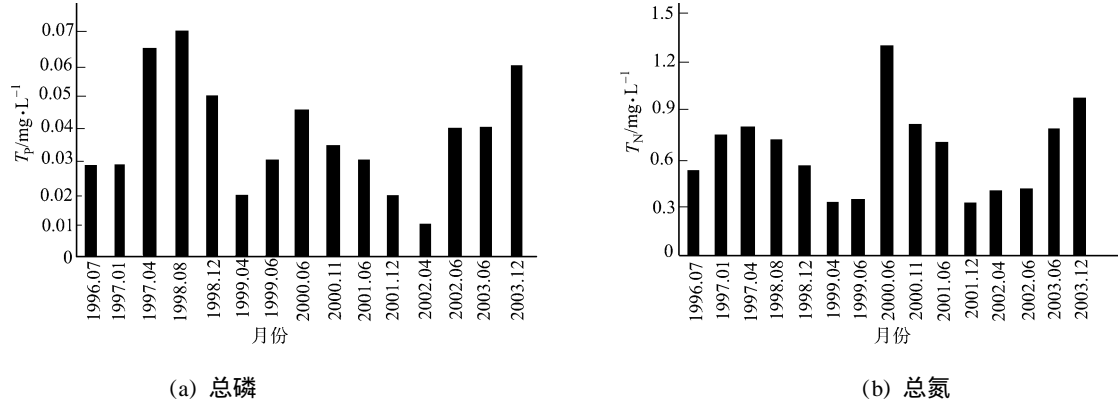


图 5 山仔水库 1996 - 2003 年不同季节总磷与总氮含量

(11~12 月,1~2 月)总氮 T_N 、总磷 T_P 的变化情况.总体上,丰水期的总氮、总磷浓度要大于枯水期.从图 6 可以看出,在 1996 - 2003 年间的丰水期、平水期和枯水期,其 N/P 值大部分在 10 以上.已有的研

究表明,对于浮游植物而言, N/P 值大于 10 表明磷缺乏^[10],说明该水库大多情况下氮元素充足,浮游植物生长主要以磷营养盐限制为主。目前,该水库总磷浓度在 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右,总氮浓度接近于 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,表明氮元素和磷元素均充足。当光照和温度适宜时,极易发生水华。

4 结束语

当环境中氮浓度充足,正磷酸盐浓度大于 $0.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对于微囊藻 SZ200307 增殖明显。表明环境中磷浓度较低时,添加外源性磷对其增长速率影响很大。当外界磷浓度增加到一定阈值后,磷不再是其生长的限制性因子。在实验室控制的温度(25°C)和照度(2500 lx)条件下,微囊藻 SZ200307 在 N/P 值为 7.5 左右生长最佳,且高的初始藻密度会加快藻细胞的大量繁殖。从山仔水库 1996 - 2003 年野外监测数据可以判断,磷元素是微囊藻 SZ200307 增长的主要限制性营养盐因素。目前该水库有充足的氮浓度和磷浓度,一旦光照和温度适宜时,极易发生水华。

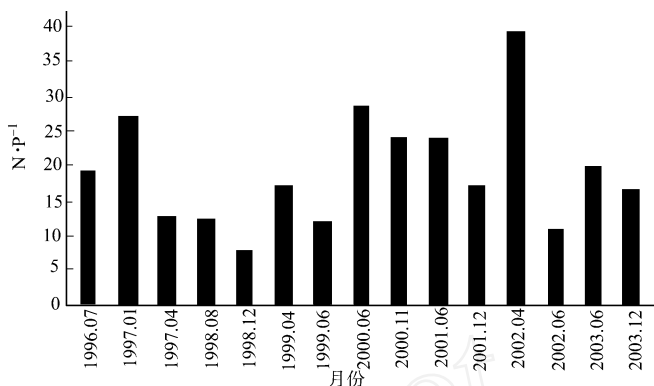


图6 山仔水库 1996 - 2003 年不同季节氮磷比值

参 考 文 献

- 1 许秋瑾,秦伯强,陈伟民,等. 太湖藻类生长模型研究[J]. 湖泊科学, 2001, 13(2): 149 ~ 157
- 2 Philips G, Bramwell A, Pitt J, et al. Practical application of 25 years' research into the management of shallow lakes [J]. Hydrobiologia, 1999, 395-396: 61 ~ 76
- 3 秦伯强. 长江中下游浅水湖泊富营养化发生机制与控制途径初探[J]. 湖泊科学, 2002, 14(3): 193 ~ 202
- 4 Kimio Hirabayashi, Kazuya Yoshizawa, Norihiko Yoshida. Progress of eutrophication and change of chironomid fauna in Lake Yamanakako, Japan[J]. The Japanese Society of Limnology, 2004, (5): 47 ~ 53
- 5 陈婉卿. 泉州山美水库水质分布特征与富营养化趋势[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2003, 42(5): 639 ~ 643
- 6 刘用凯. 山仔水库水质富营养化防治对策[J]. 福建环境, 2001, 18(1): 14 ~ 16
- 7 王志红,陈 华. 福建水华微囊藻的急性毒性及肝脏损伤作用[J]. 海峡药学, 2002, 14(1): 12 ~ 13
- 8 南京大学环境生物学教研室. 环境生物学实验技术与方法[M]. 南京:南京大学出版社, 1989. 36 ~ 40
- 9 全国主要湖泊水库富营养化调查研究课题组. 湖泊富营养化调查规范[S]. 第 2 版. 北京:中国环境科学出版社, 1990. 350 ~ 370
- 10 联合国环境规划署. 湖泊与水库富营养化防治的理论与实践[M]. 刘建康译. 北京:科学出版社, 2003. 4 ~ 10

A Study on the Nutrient Limited Factors on Growth Potential of Microcystis in the Shanzi Reservoir

Su Yuping Chen Narong Zeng Zhaoping Zhang Lizhen

(College of Chemistry and Material Science, Fujian Normal University, 350007, Fuzhou, China)

Abstract This paper studied the growth potential of microcystis SZ2003007 separated from the Shanzi reservoir in Fujian province. It analyzed the influence of nitrogen, phosphorus and the value of nitrogen/phosphorus on the growth of Microcystis SZ200307 and found out that the limited nutrition factor of this reservoir is phosphorus, which will help to offer some references for revealing the mechanism of algae bloom of this reservoir.

Key words nutrient limited factor, microcystis, growth potential, phytoplankton, reservoir