

有机磷农药对滇池微囊藻生长和摄磷效应的影响

沈 宏^{1,2} 宋立荣¹ 周培疆³ 刘永定¹(1. 中国科学院水生生物研究所, 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039;
3. 武汉大学资源与环境科学学院, 武汉 430072)

摘要:采集滇池水体作为铜绿微囊藻培养基,研究了两种有机磷农药(甲胺磷和辛硫磷)对微囊藻生长和摄磷效应的动力学规律。结果表明,在滇池水体中添加较低浓度的甲胺磷(0.8、1.6、3.2mg/L)和辛硫磷(0.02、0.06、0.1mg/L)均能不同程度地促进微囊藻的生长,且在 HGZ 培养基中抑制微囊藻生长的浓度在滇池水体中却能促进微囊藻的生长。微囊藻的生长取决于细胞内磷的浓度且对磷的吸收利用存在积累性,在微囊藻生长初期,摄取各形态磷的速率较快;随后微囊藻摄取各形态磷的速率较慢。总溶解磷(TSP)和溶解反应磷(SRP)是微囊藻优先摄取的磷形态,在生长过程中微囊藻利用了大量的溶解有机磷(DOP)作为磷源加速生长。这一特点对于微囊藻成为淡水湖泊富营养化发展过程中的一种重要优势种具有极为重要的作用。

关键词:铜绿微囊藻;有机磷农药;生长;摄磷;动力学;滇池

中图分类号:X172 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-3207(2007)06-0863-06

滇池是云南高原上最大的淡水湖泊,是昆明城市饮用水、工农业用水的水源,也是城市污水、工业废水及农业回归水的接纳水体。滇池水污染非常严重,水质超过 5 类标准,主要污染物是耗氧有机质和磷质,富营养化、异养富营养化现象十分突出^[1]。滇池优越的自然条件与良好的营养盐的供给,造成夏秋季时节藻类大量增殖,暴发水华。目前,滇池的藻类以蓝藻植物门中的微囊藻属为优势属种^[2]。因此研究滇池中营养物与藻类增殖的关系,对开展滇池富营养化的研究有着极大的意义。过去,人们对营养盐、环境因子等对滇池微囊藻生长的影响已做不少研究,结果表明,磷是滇池藻类生长的限定因子^[1]。滇池水体中磷以多种形态存在,而目前涉及有机磷和不同形态的磷对微囊藻生长影响的研究甚少。因此,以滇池水体做培养基,研究了两种有机磷农药对微囊藻生长作用以及微囊藻对不同形态的磷摄取行为和动力学规律,对研究微囊藻的暴发增殖和水华成因具有重要意义。

1 材料与方 法

1.1 藻种及培养 铜绿微囊藻 (*Microcystis aerugi-*

nosa Kütz)由中国科学院水生生物研究所淡水藻种库(FACHB)提供,从滇池中分离,经多代培养获得。实验前用 HGZ 培养基,培养温度(27 ± 1) °C, pH 8,光照强度 2000 lx 下经代数纯化培养后作为实验藻种。取处于对数生长期的藻液于 5000 r/min 离心分离 5min,去掉上清液,用无菌重蒸水反复冲洗数次以除去表面吸附的多余的磷;重复离心、洗涤,去上清液,然后将藻转入无磷的 HGZ 培养基(即配制培养基时不加入 K₂HPO₄)中饥饿培养 3d,使藻体内蓄积的磷消耗完^[3],从而获得饥饿培养后的藻,该藻液即作为实验用藻液。

1.2 湖水的采集及预处理 湖水于 2002 年 8 月采自滇池马村湾湖区,用采水器采集水面下 0.5 m 处水层湖水。湖水 pH 为 8.3。将湖水过 300 目筛,去除较大的颗粒物和固体悬浮物,混匀,高温灭菌(121 °C, 30min)后冷却至室温,作为实验时藻培养基。

1.3 化合物及配制 甲胺磷(Methamidophs)、辛硫磷(Phoxime)均由湖北省农药检测中心提供。甲胺磷纯度 > 80%,易溶于水。辛硫磷纯度 > 90%,难溶于水,因此使用异丙醇作为溶剂。将经过预处理的

收稿日期:2004-11-17;修订日期:2006-07-20

基金项目:国家重点基础研究发展规划项目(2002CB412306);中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-1-10)资助

作者简介:沈宏(1978—),女,武汉人;博士;主要从事藻类生态与毒理研究。E-mail: hongshen@163.com

通讯作者:宋立荣, Tel: 027-68780806, E-mail: lrsong@ihb.ac.cn

水样取一部分进行总磷及其他各磷形态的测定,另一部分水样中添加甲胺磷和辛硫磷。实验设置添加甲胺磷和辛硫磷两组。甲胺磷处理组的浓度分别是 0.8 mg/L、1.6 mg/L、3.2 mg/L;辛硫磷处理组的浓度分别是 0.02 mg/L、0.06 mg/L、0.1 mg/L;同设湖水对照组。

1.4 藻生长量和磷形态的测定 自接种后于室温(20℃左右),光照强度 2000 lx,光暗比 12h/12h 下生长,实验开始后每 24h 测量藻细胞生长量和各磷形态浓度。采用钼蓝显色法^[4]测定培养基中的总溶解磷(TSP)和溶解反应磷(SRP)浓度,溶解有机磷(DOP)为总溶解磷(TSP)与溶解反应磷(SRP)之差。

2 结果和讨论

2.1 滇池水体磷形态概况

由于磷形态的存在是一个动态过程,各磷形态

浓度在保存时易发生变化。因此,样品采集后立即在实验室进行分析测定,结果列于表 1。

表 1 滇池水体中各磷形态浓度

磷形态 Phosphorus forms	TP	TRP	TSP	SRP	DOP	PP
浓度 Concentration(mg/L)	0.18	0.079	0.081	0.015	0.066	0.099

从表 1 可看出,滇池水体中总磷(TP)含量很高,达到了 0.18 mg/L,大大超过了湖泊富营养化的阈值 0.02 mg/L。一般认为当水体中磷浓度在 0.02 mg/L 以上时,对水体的富营养化就引起明显的促进作用。溶解反应磷(SRP)含量最低,溶解有机磷(DOP)和颗粒磷(PP)含量较高。

2.2 滇池水体中甲胺磷和辛硫磷对微囊藻生长效应动力学

添加不同浓度的甲胺磷和辛硫磷对微囊藻生长的影响见图 1。

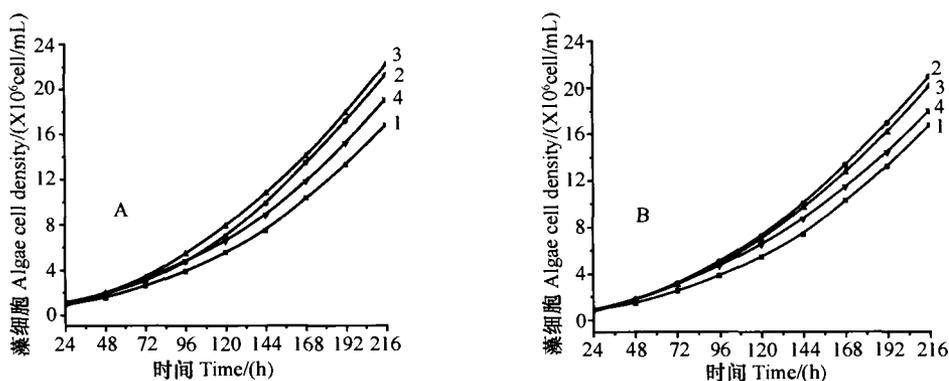


图 1 滇池水体中甲胺磷和辛硫磷对微囊藻生长效应动力学曲线

Fig. 1 Kinetic curves of methamidophs and phoxime on the growth of *Microcystis* in the lake water treated(20°C)

A 甲胺磷(Methamidophs): 1. 对照; 2. 0.8 mg/L; 3. 1.6 mg/L; 4. 3.2 mg/L; B 辛硫磷(Phoxime): 1. 对照; 2. 0.02 mg/L; 3. 0.06 mg/L; 4. 0.1 mg/L; 图 2、3 同 the same as Fig. 2、3

可以看出,实验中各个浓度的甲胺磷和辛硫磷均能不同程度地促进微囊藻在滇池水体中的生长。用指数模型对微囊藻的生长曲线进行拟合,

$$N = N_0 e^{kt} \quad (1)$$

结果列于表 2。为了比较各组有机磷农药促进微囊藻生长速率大小的百分比,用 m 表示, m 可以下式计算:

$$m\% = (k - k_{\text{对照}}) / k_{\text{对照}} \quad (2)$$

由表 2 可知,在培养基中添加 1.6 mg/L 的甲胺磷和 0.02 mg/L 的辛硫磷,微囊藻的生长最好。在实验室 HGZ 培养基中,某些抑制微囊藻生长的浓度在滇池水体中也能促进微囊藻的生长^[5]。这可能是因为在滇池水体中,藻类能直接吸收和利用的无机正

磷酸盐含量较低,因此诱发藻类分泌大量的能使有机磷转化成无机磷的酶,使有机磷农药降解,从而降低其毒性。

2.3 甲胺磷和辛硫磷对微囊藻摄磷的影响

将经过磷饥饿培养的微囊藻接种到添加有机磷农药的滇池水体中后,各处理组培养基中的 SRP 均迅速下降到最低。微囊藻摄取其他磷形态的规律如图 2-3 所示。由图可知,微囊藻摄取磷形态的过程可以分两个阶段来分析,第一个阶段为 0—48h,在这个阶段,经过了饥饿培养的藻进入到培养基后快速摄取磷,各磷形态浓度急剧下降;第二个阶段为 48—192h,在这个阶段,微囊藻对各磷形态摄取较前一阶段明显减少,各磷形态浓度下降较低。

表 2 滇池水体中甲胺磷和辛硫磷对微囊藻生长效动力学参数

Tab.2 Kinetic parameters of methamidophs and phoxime on the growth of *Microcystis* in the lake water treated(20℃)

农药浓度 (Concentration of pesticide)	k (h^{-1})	N_0 ($\times 10^6$ cell/mL)	r	m (%)	SD	p
对照 (Control)	0.01494	0.7973	0.9914	—	0.1385	<0.0001
甲胺磷 (Methamidophs) 0.8mg/L	0.01540	0.9419	0.9911	3.09	0.1452	<0.0001
甲胺磷 (Methamidophs) 1.6mg/L	0.01583	0.9424	0.9810	5.97	0.2203	<0.0001
甲胺磷 (Methamidophs) 3.2mg/L	0.01539	0.8644	0.9791	3.08	0.2247	<0.0001
辛硫磷 (Phoxime) 0.02mg/L	0.01563	0.9227	0.9831	4.61	0.2042	<0.0001
辛硫磷 (Phoxime) 0.06mg/L	0.01544	0.9121	0.9844	3.33	0.1941	<0.0001
辛硫磷 (Phoxime) 0.1mg/L	0.01517	0.8720	0.9759	1.58	0.2387	<0.0001

注: k 为微囊藻生长速率常数; N_0 为藻细胞外推浓度; r 为相关系数; SD 为方差; p 为显著性水平; 表 3、4 同

Note: k is the growth rate constant of *Microcystis*; N_0 is the extrapolate initial concentration of the algal cells; r is the correlation coefficient; SD is the standard deviation; p is the level of significance; the same as Tab.3,4

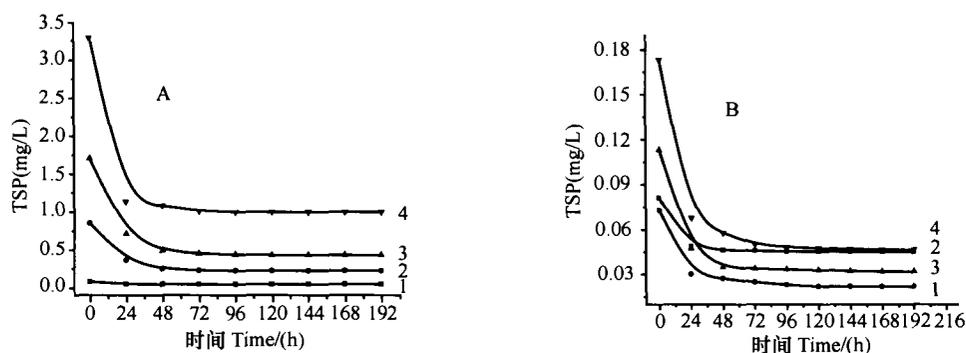


图 2 滇池水体中 TSP 浓度变化曲线

Fig.2 Kinetic curves of change of TSP concentration in the lake water treated (20℃)

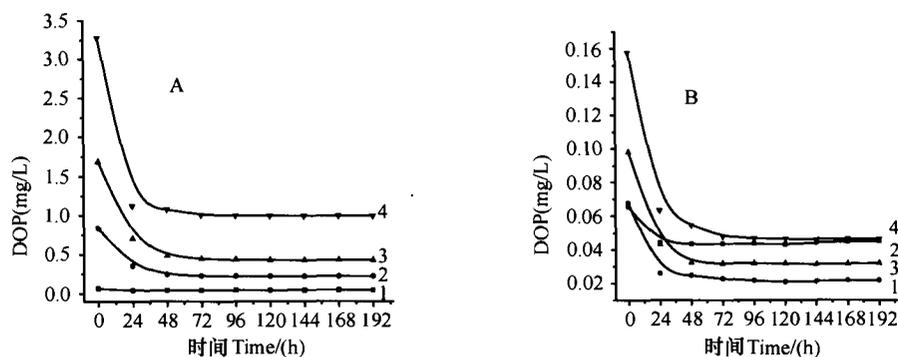


图 3 滇池水体中 DOP 浓度变化曲线

Fig.3 Kinetic curves of change of DOP concentration in the lake water treated (20℃)

图中各磷形态浓度的变化曲线可用负指数模型进行拟合,即:

$$C_t = C_0 \times e^{-kpt} \quad (3)$$

C_t 为 t 时刻磷形态浓度 (mg/L), k_p 为微囊藻摄取各磷形态的速率常数 (h^{-1}), C_0 为指前因子,外推磷形

态浓度 (mg/L), t 为时间 (h)。对式(2)两边取自然对数,可得:

$$\ln C_t = \ln C_0 - kpt \quad (4)$$

C_t 与 t 成线性关系,进行线性回归后可求出 C_0 和 k_p ,结果见表 3、表 4。

表 3 甲胺磷作用下微囊藻摄取磷形态动力学参数

Tab.3 Kinetic parameters of uptake phosphorus by *Microcystis* in the methamidophs treated medium (20°C)

阶段 Phases	浓度 Concentration(mg/L)	磷形态 Phosphorus forms	k_p (h)	C_0 (mg/L)	r	SD	p	
0—48h	对照 Control	SRP	0.03535	0.0135	0.9719	0.1918	< 0.0001	
		TSP	0.01165	0.0750	0.9256	0.3142	0.00063	
	0.8	DOP	0.00855	0.0615	0.9743	0.1933	< 0.0001	
		SRP	0.03612	0.0135	0.9685	0.2858	< 0.0001	
	1.6	TSP	0.02557	0.0896	0.9754	0.1955	< 0.0001	
		DOP	0.02542	0.7721	0.9756	0.1961	< 0.0001	
	3.2	SRP	0.03759	0.0136	0.9615	0.3125	< 0.0001	
		TSP	0.02592	0.5661	0.9742	0.1879	< 0.0001	
	48—192h	对照 Control	DOP	0.02584	0.6442	0.9743	0.1872	< 0.0001
			SRP	0.03532	0.0139	0.9657	0.2512	< 0.0001
		0.8	TSP	0.02322	2.7805	0.9784	0.1819	< 0.0001
			DOP	0.02317	2.7669	0.9833	0.1742	< 0.0001
1.6		SRP	0.00002	0.0036	0.9923	0.1221	< 0.0001	
		TSP	0.00025	0.0463	0.9503	0.2523	0.00048	
48—192h	0.8	DOP	0.00024	0.0427	0.9862	0.1961	< 0.0001	
		SRP	0.00002	0.0034	0.9914	0.1304	< 0.0001	
	1.6	TSP	0.00103	0.2511	0.9542	0.2875	0.00042	
		DOP	0.00051	0.2414	0.9709	0.1907	< 0.0001	
	3.2	SRP	0.00002	0.0032	0.9701	0.1914	< 0.0001	
		TSP	0.00126	0.4822	0.9772	0.1847	< 0.0001	
3.2	DOP	0.00081	0.4907	0.9827	0.1724	< 0.0001		
	SRP	0.00002	0.9163	0.9607	0.2150	0.00037		
3.2	TSP	0.00073	0.9163	0.9646	0.2325	0.00024		
	DOP	0.00042	1.0638	0.9724	0.1901	< 0.0001		

表 4 辛硫磷作用下微囊藻摄取磷形态动力学参数

Tab.4 Kinetic parameters of uptake phosphorus by *Microcystis* in the phoxime treated medium (20°C)

阶段 Phases	浓度 Concentration(mg/L)	磷形态 Phosphorus forms	k_p (h)	C_0 (mg/L)	r	SD	p	
0—48h	对照 Control	SRP	0.03535	0.0135	0.9719	0.1918	< 0.0001	
		TSP	0.01165	0.0750	0.9256	0.3142	0.00063	
	0.02	DOP	0.00855	0.0615	0.9743	0.1933	< 0.0001	
		SRP	0.03823	0.0131	0.9675	0.2271	0.00022	
	0.06	TSP	0.02454	0.0638	0.9836	0.1984	< 0.0001	
		DOP	0.02305	0.0582	0.9642	0.2547	0.00021	
	0.1	SRP	0.03651	0.0132	0.9782	0.1981	< 0.0001	
		TSP	0.02289	0.0130	0.9722	0.1979	< 0.0001	
	48—192h	0.1	DOP	0.02203	0.0899	0.9838	0.1624	< 0.0001
			SRP	0.03548	0.0135	0.9630	0.2561	0.00031
		0.02	TSP	0.02037	0.4143	0.9772	0.1952	< 0.0001
			DOP	0.02007	0.1390	0.9855	0.1811	< 0.0001
0.02		SRP	0.00002	0.0036	0.9923	0.1221	< 0.0001	
		TSP	0.00025	0.0463	0.9503	0.2523	0.00048	
48—192h	0.02	DOP	0.00024	0.0427	0.9862	0.1961	< 0.0001	
		SRP	0.00002	0.0034	0.9871	0.1968	< 0.0001	
	0.06	TSP	0.00159	0.0275	0.9664	0.2472	0.00021	
		DOP	0.00144	0.0259	0.9859	0.1989	< 0.0001	
	0.1	SRP	0.00002	0.0031	0.9979	0.1107	< 0.0001	
		TSP	0.00122	0.0354	0.9835	0.1924	< 0.0001	
0.1	DOP	0.00083	0.0259	0.9859	0.1927	< 0.0001		
	SRP	0.00002	0.0037	0.9884	0.1914	< 0.0001		
0.1	TSP	0.00108	0.0567	0.9778	0.2655	< 0.0001		
	DOP	0.00037	0.0528	0.9606	0.2208	0.00035		

实验中各组微囊藻摄取 SRP 的规律比较接近,在第一阶段,微囊藻对各磷形态的摄取均较快,其中 $k_{p_{SRP}} > k_{p_{TSP}} > k_{p_{DOP}}$,这表明藻类优先利用的是 SRP。经过饥饿培养后的藻,进入到培养基中后立即大量吸收培养基中的无机磷,由培养基中 SRP 的浓度较低,不能满足藻类生长需要,因此藻类开始利用其他形态的磷。在第二阶段,藻类摄取各磷形态的速率较第一阶段慢,微囊藻摄取各磷形态的速率常数为 $k_{p_{TSP}} > k_{p_{DOP}} > k_{p_{SRP}}$,这表明在第二阶段,藻类对 SRP 的摄取很少,主要利用有机磷作为其生长的磷源。各组藻类摄取 SRP 的速率最小且大小一样。由于在第一阶段藻类已摄取了大量的磷储存在细胞中,因此这一阶段微囊藻摄取磷形态的速率相对较慢。在第一阶段和第二阶段,加入了甲胺磷和辛硫磷的藻类对各磷形态的摄取速率均大于对照组,且藻的生长越快,对各磷形态的吸收利用也越快。这表明,添加一定浓度的有机磷农药,能促进藻类对各磷形态的吸收利用,从而使藻类加速增长。比较微囊藻生长与摄磷的曲线可以发现,微囊藻摄取磷形态最多的时期并不是微囊藻生长最快的时期,这说明微囊藻对磷的摄取存在积累性,微囊藻的生长取决于藻细胞内的磷浓度。此结果与 Janse^[6,7]提出的“两步过程模型”一致。微囊藻对磷的摄取具有积累性,当添加一定量的甲胺磷和辛硫磷后,促进了微囊藻对各磷形态的摄取,从而使藻细胞吸收更多的磷,细胞过量吸收磷可以成为微囊藻增长的加速剂。这一特点对于藻类种群在竞争中的生存是有利的,这对微囊藻成为淡水湖泊富营养化发展过程中的一种重要优势种具有极为重要的作用^[8]。

微囊藻在滇池水体中摄取磷形态的规律与在 HGZ 培养基的完全不同^[5],这主要是因为两种培养体系中磷酸盐的浓度差异较大。比较微囊藻在两种培养体系中的生长和摄磷规律,可以认为适当的磷浓度能促进微囊藻的生长和增殖,在这个适当的磷浓度范围内,存在适合藻类增殖的最佳各磷形态比值。从实

验结果可推测,当环境中藻类可利用的无机磷酸盐浓度较低时,有机磷浓度在一定范围内增加能促进藻类的增殖;而环境中藻类可利用的无机磷酸盐浓度较高时,有机磷对藻类增殖的影响并不十分显著。有关不同磷形态对藻类的生长的影响还需进一步研究。

参考文献:

- [1] Xia X H, Dong Ye M X, Zhou J M, et al. Geochemistry and influence to environment of phosphorus in modern sediment in Dianchi Lake [J]. *Acta Sedimentologica Sinica*, 2002, 20(3): 416—420 [夏学惠, 东野脉兴, 周建民, 等. 滇池现代沉积物中磷的地球化学及其对环境的影响. 沉积学报, 2002, 20(3): 416—420]
- [2] Wu W L. Eutrophication in Dianchi Lake and its algae resource [J]. *Env Sci Yunnan*, 2000, 19(1): 35—37 [吴为梁. 滇池富营养化与藻类资源. 云南环境科学, 2000, 19(1): 35—37]
- [3] Mostafa M E, Hossam M K and Ola H E. Effect of atrazine herbicide on growth, photosynthesis, protein synthesis and fatty acid composition in the unicellular alga *Chlorella kessleri* [J]. *Ecotoxic Environ Safe*, 1994, 29: 349—358
- [4] Zhou P J, Zheng Z H, Yu Z K, et al. Studies on the relationship between the growth of *Chlorella vulgaris* and phosphorus fractions in water of Lake Donghu, Wuhan [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2001, 25(6): 571—576 [周培疆, 郑振华, 余振坤, 等. 普通小球藻生长与东湖水体磷形态的相关研究. 水生生物学报, 2001, 25(6): 571—576]
- [5] Shen H, Lin J, Zheng Z H, et al. Kinetic studies on the effects of organophosphorus pesticides on the growth of *Microcystis a.* and its uptake to phosphorus [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, 28(2): 174—179 [沈宏, 林俊, 郑振华, 等. 有机磷农药对铜绿微囊藻生长及摄磷效应的动力学研究. 水生生物学报, 2004, 28(2): 174—179]
- [6] Janse J H, Aldenberg T, Kramer P R G. A mathematical model of the phosphorus cycle in Lake Loosdrecht and simulation of additional measures [J]. *Hydrobiologia*, 1992, 233: 119—136
- [7] Janse J H, Aldenberg T. Modelling the eutrophication of the shallow Loosdrecht Lakes [J]. *Verh Int Ver Limnol*, 1991, 24: 751—757
- [8] Gao X Q, Ren J C, Zong Z X, et al. Studies on the nutrient energetics of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis*, 1994, 30(4): 461—469 [高学庆, 任久长, 宗志祥, 等. 铜绿微囊藻营养动力学研究. 北京大学学报(自科版), 1994, 30(4): 461—469]

KINETIC STUDIES ON THE EFFECTS OF ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES ON THE GROWTH OF *MICROCYSTIS AERUGINOSA* AND THE UPTAKE OF PHOSPHORUS FORMS BY *MICROCYSTIS AERUGINOSA* IN DIANCHI LAKE

SHEN Hong^{1,2}, SONG Li-Rong¹, ZHOU Pei-Jiang³ and LIU Yong-Ding¹

(1. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072; 2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039; 3. College of Resources and Environmental Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072)

Abstract: Dianchi Lake is the largest lake in Yunnan Province of China. It is a plateau lake and has been undergoing the process of eutrophication. Phosphorus is the main limited factor for the growth of algae in Dianchi Lake. Water samples collected from Dianchi Lake as culture medium for *Microcystis aeruginosa*. The present study aims to illustrate the effects of two organophosphorus pesticides (methamidophs and phoxime) on the growth of *Microcystis aeruginosa* in the lake water. Meanwhile, the kinetic mechanism of uptake of phosphorus forms by *Microcystis* was also studied. The results indicated that addition of organophosphorus pesticides to lake water at concentration of 0.8, 1.6, 3.2 mg/L (methamidophs) and 0.02, 0.06, 0.1 mg/L (phoxime) stimulated the growth of *Microcystis*. Under certain concentration, methamidophs and phoxime could inhibit the growth of *Microcystis* in the HGZ medium, but accelerate the growth in the lake water. The growth rate of *Microcystis* was dependent upon the concentration of intracellular phosphorus, and accumulative consumption of phosphorus by the alga was testified. Each phosphorus form was used by the alga rapidly at initial phase of algal growth and the concentration of phosphorus forms changed very limited in subsequent phase. The total soluble phosphorus (TSP) and soluble reaction phosphorus (SRP) were the preferential phosphorus forms used by *Microcystis* and as P source, dissolved organic phosphorus (DOP) was also utilized by the alga to accelerate the growth of *Microcystis*. All above characteristic play an important role in promoting *Microcystis* bloom.

Key words: *Microcystis aeruginosa*; Organophosphorus pesticides; Growth; Uptake of phosphorus forms; Kinetics; Dianchi Lake