

水体 pH 和铜绿微囊藻增殖的关系研究

张青田^{1,2}, 王新华², 林超³, 胡桂坤¹, 郭勇³

(1. 天津市海洋资源与化学重点实验室 天津科技大学, 天津 300457;
2. 南开大学生命科学学院, 天津 300071; 3. 海河流域水资源保护局, 天津 300170)

摘要:以水华生物铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)为研究对象,在实验室内研究了水体 pH 变化和微藻生长的关系,以期了解铜绿微囊藻对水体 pH 的适应和调节能力。试验分 2 组,一组每天测定水体实际 pH 后调整水体 pH 为设计值,另一组试验开始时调节 pH 至设计值后不人为改变,每天测定 pH。结果表明,铜绿微囊藻偏好碱性环境,并对环境的 pH 有一定的适应和调节能力。在每天调节 pH 为 11 的处理组,试验 1 周内铜绿微囊藻生长较快,并有较高的细胞生物量;铜绿微囊藻对每天调节 pH 为 5~11 和初始 pH 为 5~11 的水体都有很高的调节能力,使 pH 趋向于适宜范围,试验中实测 pH 7.3~9.4;对强酸和强碱环境的调控能力较弱,但对强碱环境的调节能力大于对强酸环境的,持续 1 周的强酸或强碱环境并未使铜绿微囊藻很快灭失,仍有发生水华的可能。

关键词:铜绿微囊藻;增殖;pH 试验;水华

中图分类号:Q948.11 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-3075(2011)02-0052-05

蓝藻门和绿藻门生物是引起淡水水华的主要生物,微囊藻是湖泊和水库水华的优势种(万蕾等,2007),其中以铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)造成的灾害尤甚,成为当今研究热点之一(Solis et al, 2009; Ghazali et al, 2010; Karadzic et al, 2010)。虽然氮、磷等营养盐通常被认为是蓝藻水华形成的决定性因素,但是影响水华形成的环境因素决不仅限于此,水华的发展和形成应该是多种因素作用下的综合结果。

水体的酸碱度(pH)是表征水体状况的重要指标之一,也是环境监测的重要指标之一。虽然有人指出,水体 pH 是变化的,不能作为预测蓝藻生物量的指标(袁丽娜等,2008),但是鉴于水质因子作用的复杂性和综合性,人们还是开展了较多的 pH 对浮游藻类影响的研究。研究发现,湖泊水库中的 pH 主要受 CO₂ 含量的控制;在微藻的生长期, pH 变化随藻类细胞数量变化表现出一定规律(刘建康, 1999; 王志红等, 2004)。López-Archilla 等(2004)的研究表明蓝藻能在多样的 pH 环境中存活;也有研究表明,微藻生长对环境 pH 具有一定的调节能力

(Huang et al, 2002)。罗伟等(2007)也证实了满江红鱼腥藻和固氮鱼腥藻这 2 种蓝藻具有改变其生长环境 pH 的能力,改变后的 pH 环境也是大多数生物能够适应的 pH 环境。水体中 pH 变化和微囊藻密度变化是它们交互作用的结果,互为因果关系(吴剑等, 2009)。这说明不但 pH 影响藻类生长,而且藻类生长也会影响水体 pH。

工业废水的排放很容易使水体的 pH 发生酸化或碱化,影响原有的平衡,进而影响生物的生长。目前,关于蓝藻对连续 pH 变化的耐受力 and 适应力的研究很少。本文以铜绿微囊藻为研究对象,在实验室内观察了其在调控 pH 和不调控 pH 条件下的生长状况,分析了水体 pH 与铜绿微囊藻生长的相互关系,以为环境评价和水华研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用铜绿微囊藻(FACHB-905)购于中国科学院水生生物研究所淡水藻种库,保种用铜绿微囊藻培养液按照 BG-11 培养基配置,置于光照培养箱中保存,定期进行接种,保证试验使用。培养条件为:温度 25℃, pH 7.5~8.5, 光暗周期 14:10, 光照强度 2 500~3 000 lx。每天早晚各摇瓶 1 次。

1.2 灭菌和消毒方法

在微藻培养和试验中,对容器、用具和用水等须进行消毒或灭菌处理,以防止藻种混杂或原生动物的滋生造成的培养和试验失败。根据灭菌和消毒对象

收稿日期:2010-09-09 收修改稿日期:2010-10-28

基金项目:水利部公益性行业科研专项经费项目(200801135);
国家重点基础研究发展计划(973 计划)(2006CB403408)。

通讯作者:王新华,博士,教授,博士生导师。E-mail: xhwang@nankai.edu.cn

作者简介:张青田,1974 生,男,博士,副教授,主要从事水生生物学研究。E-mail: qtzhang@163.com

不同,主要采用了高压湿热灭菌、烧灼灭菌、煮沸灭菌、化学药物消毒和紫外线消毒等方法(陈明耀,1995)。

1.3 试验设计

本研究分2组试验进行:一组每天测定水体实际 pH 后调整水体 pH 为设计值,另一组试验开始时调节 pH 至设计值后不人为改变,每天测定 pH。前者相当于模拟废水每天排放后,将被铜绿微囊藻调节的水体 pH 恢复初始状态的情形。为了便于比较分析,2组试验设置的 pH 水平相同,均为 3、5、7、9、11 和 13。

试验采用一次性培养方式进行(陈明耀,1995),试验开始时每 250 mL 锥形瓶中盛放对数生长期的铜绿微囊藻藻液 100 mL,培养液浓度参考 BG-11 配方,其中硝酸氮浓度为 2.0 mmol/L,磷酸氢二钾浓度为 0.10 mmol/L。分别用 NaOH 和 HCl 调整各瓶藻液的 pH 为设计水平,每个处理设置 2 个平行组。每天测定微藻的数量和水体 pH。细胞数量用血球计数板法测定;pH 使用上海精密科学仪器有限公司生产的 PHS-25 型数显 pH 计测定。

2 结果与分析

2.1 铜绿微囊藻生长情况

2组 pH 试验的铜绿微囊藻生长情况见图 1。在调节试验开始 1 周内,每天调节 pH 为 11 的铜绿微囊藻生长较好,其他 pH 均不利于该藻生长。在开始阶段,pH 5~9 时铜绿微囊藻快速生长,但随后出现抑制现象。6 d 后仅有 pH 为 11 的处理生长较好,其他多数处理的微藻细胞数几乎为 0,故停止了藻类计数和 pH 调控。

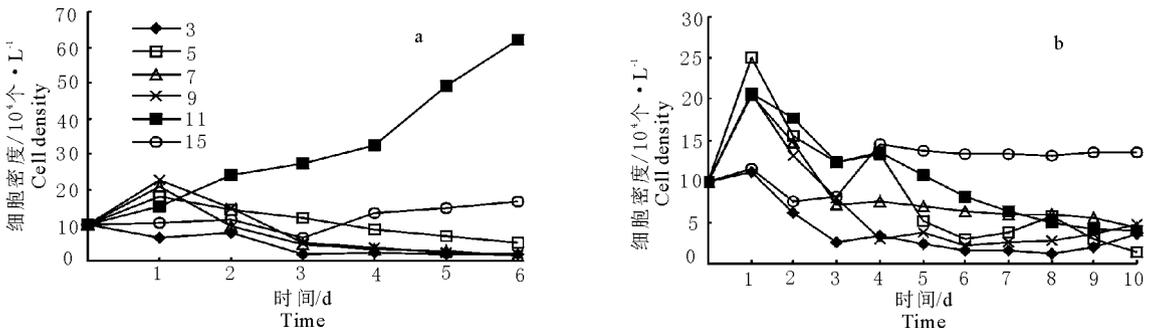
在未调控 pH 试验组中,铜绿微囊藻生长情况

比较特殊,并未表现出明显的一次性培养的生长模式。试验持续了 10 d,第 6 天后多数处理的细胞数量基本维持稳定,只有 pH 为 5 和 11 的处理中有明显起伏或下降。不过所有处理水平下,铜绿微囊藻都没有彻底死亡,再过 10 d 后(试验第 20 天),pH 为 9 和 11 的处理得到较高的细胞数量,pH 为 7 的处理的微藻数量次之,其它处理组微藻数量没有大的变化。

2.2 水体 pH 变化

试验期间测定的各处理实际 pH 变化情况如图 2 所示。每天人为调节水体 pH 为设计值的试验中,铜绿微囊藻在水体 pH 为 5~11 的环境中调节能力较强,最终调节 pH 约在 7~9,说明铜绿微囊藻偏好碱性环境。对于图 1 中生长水平较好的处理(pH 为 11)的实测 pH 都低于 10,表明铜绿微囊藻通过自身调节降低了水体的 pH。铜绿微囊藻对强酸性环境适应力和调节力均很低。随着试验时间延长,铜绿微囊藻对环境 pH 调节的能力也会发生变化。试验进行 1 周后,一些处理的微藻数量急剧减少,未再继续调整 pH。

在未进行人工干预的试验中,水体 pH 变化的趋势和调控 pH 组的情况类似。在不干预时,铜绿微囊藻调节 pH 的能力较强。在 pH 为 5~11 的处理中,水体实际 pH 在较短的时间内均趋向于 8 左右,而调控组的处理间差异较大。图 2 表明铜绿微囊藻具有对 pH 的适应和调控能力,2组试验均调整 pH 在 7.3~9.4 范围(实测值);结合微藻生长情况,可以将此范围作为适宜铜绿微囊藻生长的 pH 范围。总体上,对于 pH 5~11 的水体,铜绿微囊藻会短时间内作出反应,调节 pH 至适宜范围;对强酸和强碱环境的调控能力明显减弱。



a: 调控 pH; b: 未调控 pH

图 1 试验期间铜绿微囊藻生长曲线

a: pH controlled; b: pH not controlled

Fig. 1 Growth curves of *M. aeruginosa* in the experiments

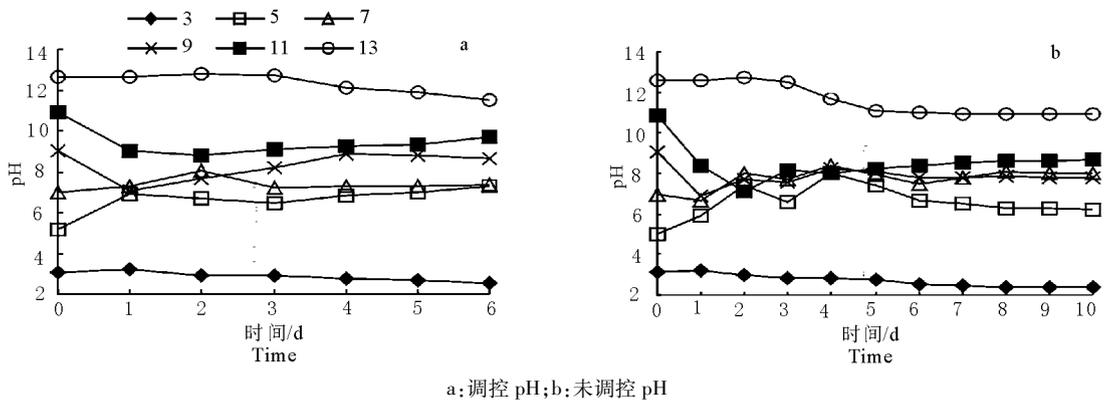


图2 试验期间实测 pH 变化

a: pH controlled; b: pH not controlled

Fig.2 Growth curves of *M. aeruginosa* in the experiments

3 讨论

铜绿微囊藻偏好碱性环境,并对环境的 pH 有一定的适应和调节能力,对强碱环境的调节能力大于强酸环境的;对 pH 5~11 的环境有很高的调节力,使水体 pH 趋向 7~9,本试验中调节后的 pH 实测值 7.3~9.4。即使在强酸 (pH = 3) 和强碱 (pH = 13) 环境,铜绿微囊藻并未立即死亡,在 1 周内仍保持了一定的生物量。这说明水体 pH 不适宜时仍有发生水华的潜力,靠调节水体 pH 来控制水华是有一定风险的;在废水排放引起 pH 急剧变化的水域依然存在发生水华的可能。

已有研究表明,当营养物质及其他条件适宜时, pH 在 8 左右可促进铜绿微囊藻水华发生;当 pH 不利于藻类生长,藻类的自适应性使其可通过一系列生理生化反应调节水体 pH 值趋向适宜生长的偏碱性范围(黄钰铃等,2008)。陈明曦(2007)发现不同处理组水体 pH 在藻类生长过程中一直发生变化,总体表现出归一化趋势,各处理组的 pH 趋向 8.6~9.9。本研究的结论与其基本一致。另一方面,吴剑等(2009)的结果和本研究差异较大,其认为处于延迟期和对数生长期的铜绿微囊藻使培养液的 pH 上升,从初始的 7.2、8.0 和 8.8 分别上升到最大值 10.02、10.34 和 10.94;稳定期和衰亡期的微囊藻使培养液 pH 降低,初始值为 8.8 时,最终 pH 降至 8.66。其增长幅度高于本研究结果。与满江红鱼腥藻和固氮鱼腥藻 2 种蓝藻相比,铜绿微囊藻对水体 pH 的适应和调节能力较强。在 pH 为 5~9 的环境中,满江红鱼腥藻和固氮鱼腥藻都可以正常生长,且生长的过程中还改变了生长环境的 pH 值,酸性环境 pH 都发生上升,碱性环境的 pH 改变不大。而在

pH 为 3 和 11 的环境中,2 种藻的生长都受到抑制(罗伟等,2007)。适合螺旋藻突变株生长的 pH 为 9.0~10.5; pH 为 9.5 时胞内藻胆蛋白含量最高(张少斌等,2005),稍高于本研究的微藻。

在一定条件下,铜绿微囊藻对水体 pH 有调节至适宜水平的倾向和能力。对于多数试验处理,不管是每天调节 pH,还是不调节 pH,铜绿微囊藻均努力调节 pH 至较适宜生长范围,但是每天调节 pH 为一定值将降低其调控能力。比较试验中后期实测 pH 的结果,调节 pH 试验组结果一般稍高于不调节 pH 组的,说明此时铜绿微囊藻对水体 pH 的调节能力出现差异。水体持续保持某不适 pH 水平时,铜绿微囊藻的调节能力变弱了,说明如果连续地废水排放等冲击将抑制铜绿微囊藻生长。

本研究中铜绿微囊藻的生长较差,已有研究也显示了 pH 试验中有较长的延迟期(马祖友等,2005;陈明曦,2007),这可能和多种因素有关,但也说明 pH 影响铜绿微囊藻的生长。关于 pH 变动和浮游藻类生长的关系研究还需要开展更多的室内试验和现场调查。

参考文献

- 陈明曦. 2007. 蓝藻水华生消机制室内模拟试验研究[D]. 宜昌:三峡大学.
- 陈明耀. 1995. 饵料生物培养[M]. 北京:中国农业出版社.
- 黄钰铃,纪道斌,陈明曦,等. 2008. 水体 pH 值对蓝藻水华生消的影响[J]. 人民长江,39(2):63-65.
- 刘建康. 1999. 高级水生生物学[M]. 北京:科学出版社.
- 罗伟,沈健英. 2007. 2 种蓝藻的生长对不同环境 pH 的响应[J]. 上海交通大学学报:农业科学版,25(6):566-569.
- 马祖友,储昭升,胡小贞,等. 2005. 不同磷质量浓度体系中

- pH 变化对铜绿微囊藻和四尾栅藻竞争的影响[J]. 环境科学研究, 18(5): 30 - 33.
- 万蕾, 朱伟, 赵联芳. 2007. 氮磷对微囊藻和栅藻生长及竞争的影响[J]. 环境科学, 28(6): 1230 - 1235.
- 王志红, 崔福义, 安全, 等. 2004. pH 与水库富营养化进程的相关性研究[J]. 给水排水, 30(5): 37 - 41.
- 吴剑, 孔倩, 杨柳燕, 等. 2009. 铜绿微囊藻生长对培养液 pH 和氮转化的影响[J]. 湖泊科学, 21(1): 123 - 127.
- 袁丽娜, 宋炜, 肖琳, 等. 2008. 多环境因素全面正交作用对铜绿微囊藻生长的效应研究[J]. 南京大学学报: 自然科学版, 44(4): 408 - 414.
- 张少斌, 燕安, 刘慧, 等. 2005. pH 值对螺旋藻突变株 (SP-Dz) 生长及藻胆蛋白含量的影响[J]. 安徽农业科学, 33(8): 1562 - 1563.
- López-Archilla A I, Moreira D, López-García P, et al. 2004. Phytoplankton diversity and cyanobacterial dominance in a hyper eutrophic shallow lake with biologically produced alkaline pH [J]. Extremophiles, (8): 109 - 115.
- Ghazali E, Saqrane S, Carvalho A P, et al. 2010. Effects of the microcystin profile of a cyanobacterial bloom on growth and toxin accumulation in common carp *Cyprinus carpio larvae* [J]. Journal of Fish Biology, 76(6): 1415 - 1430.
- Huang J J, Kolodny N H, Redfearh J T, et al. 2002. The acid stress response of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6308 [J]. Microbiol, (177): 486 - 493.
- Karadzic V, Subakov-Simic G, Krizmanic J, et al. 2010. Phytoplankton and eutrophication development in the water supply reservoirs Garasi and Bukulja (Serbia) [J]. Desalination, 255(1/2/3): 91 - 96.
- Solis M, Poniewozik M, Mencfel R. 2009. Bloom-forming cyanobacteria and other algae in selected anthropogenic reservoirs of the Leczna-Wlodawa Lakeland [J]. Oceanological and Hydrobiological Studies, 38(Suppl. 2): 71 - 78.

(责任编辑 杨春艳)

Study on the Relationship between pH and Cell Proliferation of *Microcystis aeruginosa*

ZHANG Qing-tian^{1,2}, WANG Xin-hua², LIN Chao³, HU Gui-kun¹, GUO Yong³

- (1. Tianjin Key Laboratory of Marine Resources and Chemistry, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;
2. College of Life Science, Nankai University, Tianjin 300071, China;
3. Water Resources Protection Bureau of Haihe River Basin, Tianjin 300170, China)

Abstract: *Microcystis aeruginosa* is one of the preponderant Cyanobacteria species causing harmful blooms in the lakes and the reservoirs. The study, which included two experiments, focused on the relationship between pH and the cell proliferation of *M. aeruginosa* in order to analyze the accommodation ability of this species against the pH stress. In the first experiment, the pH values were controlled every day to the designed value after monitoring, while in the second the values were monitored without controlling. The results showed that this species preferred alkali condition, and had the capacity to adapt itself to and to adjust the pH of the water to some extent. In the pH-controlled experiment, *M. aeruginosa* grew faster and had higher density within a week when the pH value was 11. This cyanobacterium species had higher adjusting ability when the pH values in both controlled and uncontrolled pH experiments were between 5 and 11, and changed the pH values to its optimal values which were monitored actually as 7.3–9.4. The adjusting ability was better in a strong alkali environment than in a strong acid environment, although this species had weak controlling ability in very strong alkali or acid conditions. In this study, the species did not die off in strong alkali or strong acid conditions during the experimental period. Therefore the possibility of water bloom would still exist.

Key words: *Microcystis aeruginosa*; proliferation; pH experiment; water bloom