

# 武汉市解放公园池塘的微囊藻水华 及其毒性变化的生态研究\*

程 凯 赵以军\*\* 许 敏 尹 隽 熊 勤 周金陈  
王玉珍 张 玮 王金旺 刘朝莹 王芙蓉

华中师范大学生命科学学院, 武汉 430079

**摘要** 报道了一小型富营养化公园池塘中(年度总氮、总磷的平均值分别为 6.1 和  $1.79 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )微囊藻水华及其毒性变化的生态研究结果. 水华中铜绿微囊藻的多度大于 90%. 水华集中在 5~10 月间(水温在  $16\sim 33\text{ }^{\circ}\text{C}$  之间)暴发, 共出现了 3 个显著的生长峰, 3 个峰的叶绿素 a 含量分别为 0.73, 1.44 和  $1.30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 该池塘中磷与水华没有相关性, 铵氮则明显影响水华的发生与消亡,  $9.5\sim 10.75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度的铵氮促进微囊藻水华的暴发, 铵氮低于  $0.89 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 微囊藻水华的发生受到限制, 也就是说, 高浓度的铵氮是水华的“促进因子”, 低浓度的铵氮是水华的“限制因子”. 水华期间藻细胞的毒性呈逐步升高的趋势, 但毒性峰的位置总是滞后于生长峰, 而且是生长峰越大滞后的时间越长.

**关键词** 微囊藻水华 微囊藻毒素 环境因子

随着全球水体富营养化的加剧,“水华”与“赤潮”的发生已越来越严重. 蓝藻在全年淡水水体中所占全部浮游藻的比重, 从无污染水体的 28.68% 提高到污染水体中的 78.56%<sup>[1]</sup>. 微囊藻是我国乃至全世界最常见的水华蓝藻, 我国很多著名的湖泊, 如武汉东湖、江苏太湖、安徽巢湖、云南滇池等都有微囊藻水华暴发的报道, 而小型池塘、水库等水体中水华的发生就更为常见, 每年有时长达 7~8 个月. 大多数微囊藻水华产生一类称为微囊藻毒素的肝毒素, 它是由 7 个氨基酸组成的环状多肽, 结构和性能极稳定, 藻细胞破裂后释放到水体中, 给水质和水产造成严重后果. 国内外对水华和毒素的研究, 尽管在室外监测和室内试验及化学分析、病理探讨等方面做了大量的工作<sup>[2]</sup>, 对水华的发生与消亡也有各种各样的解释, 但水体中微囊藻水华与毒性变化动力学的同步研究报道却不多. 为了进一步了解水华与毒素的动力学特征及环境中使微囊藻水华快速形成的“促进因子”<sup>[3]</sup>, 我们选取一些富营养化程度高的水体, 开展上述研究. 本文报道其中一个富营养化池塘的研究结果.

2001-01-03 收稿, 2001-03-13 收修改稿

\* 国家自然科学基金(批准号: 39970064)、湖北省自然科学基金(批准号: 98J015)和武汉市青年科技晨光计划(批准号: 985003072)资助项目

\*\* 联系人, Email: yjzhao@public.wh.hb.cn

# 1 研究地点与方法

## 1.1 研究地点

武汉市汉口解放公园的池塘,面积约 20000 m<sup>2</sup>,平均水深为 1.5 m,受风力影响小,流速慢,无养殖鱼类,环境相对稳定,富营养化水平高,3 年来连续发生水华,因此是研究水华消长和毒性变化的较理想的生态模型.

## 1.2 研究方法

采样:使用有机玻璃采水器,自 2000 年 1 月初至 11 月中旬,每周二(周二下雨则改在周三)于中午 11:30 采样. 采集样品标记为 A, B, C 3 类: A 样为定点采集,采集后于现场加氯仿固定<sup>[4]</sup>; B 样亦为定点采集,不作任何处理; C 样为池塘中从 5 个位点采集水样的等体积混合样,亦不作任何处理. 将 A, B 样品置于 2~5℃ 条件下保存, C 样则于常温下保存. 采样的同时测定水温、电导、pH 值等指标.

水化分析:采样后 24 h 内对水样进行氮、磷指标的测定,其中,使用样品 A 进行铵氮、亚硝氮、正磷酸盐浓度的测定,样品 B 用于测定硝氮、总磷的浓度. 测定铵氮、亚硝氮、正磷酸盐、总磷使用的是 HANNA C200 多参数离子计,用化学滴定法测定硝氮<sup>[5]</sup>.

浮游藻生物量测定及藻种鉴定:使用样品 C,采样后 12 h 内用丙酮抽提叶绿素,参照 Eley 的公式<sup>[6]</sup>计算叶绿素 a 的含量. 在光学显微镜下对浮游藻的种类和多度进行观察.

藻样毒性测试:采用小白鼠腹腔注射法,通过小白鼠的中毒症状及其肝脏的病变特征推测毒素的性质(肝毒素或神经毒素),用干藻的半数致死剂量 LD<sub>50</sub>(mg/kg,干藻质量/小白鼠体重)表示毒性的大小<sup>[7]</sup>.

数据的统计分析采用 SPSS10.0 的 Correlate 方式完成.

# 2 结果和讨论

## 2.1 藻类水华消长与环境因子的关系

**2.1.1 浮游生物基本情况** 表 1 列出了 2000 年 1 月至 11 月间池塘中浮游生物变化的情况;图 1 是水华生物量的变化曲线. 从中可以看出,微囊藻水华的发生集中在 5 月中旬到 9 月下旬的 4 个月的时间内,但在 10 月中旬有一个短暂的回复过程. 水华蓝藻中以铜绿微囊藻为主,其多度的平均值高达 91.1%,因此可认定池塘主要发生铜绿微囊藻水华.

表 1 2000 年浮游生物变化

时间段	主要事件
1 月初~2 月中旬	缺乏浮游生物
2 月中旬~3 月中旬	发生衣藻水华
3 月中旬~4 月上旬	仅有少量绿藻和浮萍生长
4 月中旬~4 月下旬	有一定量的绿藻生长,但未形成水华
4 月下旬~5 月上旬	金鱼藻、轮虫大量出现
5 月中旬~10 月中旬	铜绿微囊藻水华大量发生
10 月中旬~11 月上旬	缺乏藻类生长,浮萍消退

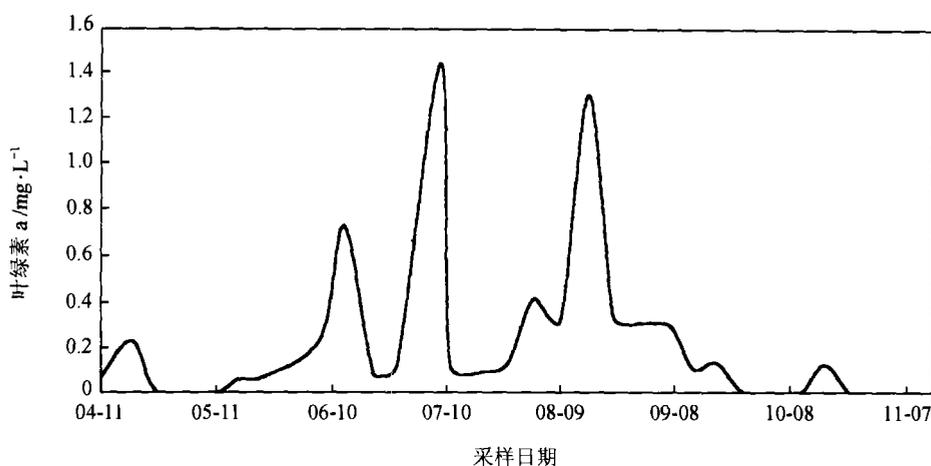


图1 水华生物量的变化曲线

**2.1.2 藻类水华消长与温度、磷、铵氮的关系** 测定结果显示,叶绿素 a 和水温之间呈显著正相关,显著水平为 95.6%,显然温度是引发水华的前提。表 2 所示在整个水华发生期间总氮和总磷的平均值分别高达  $6.1$  和  $1.79 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,正磷酸盐的平均值为  $0.76 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,均远高于蓝藻生长需要的磷的含量<sup>[8]</sup>,而总氮与总磷的比值在  $0.23 \sim 14.38$  之间,平均值为  $4.25$ ,低于最适于铜绿微囊藻生长的氮磷比  $16$ <sup>[9]</sup>。这些数据说明,尽管池塘中氮、磷的含量都很高,但由于氮磷比很低,藻类生长必然对氮有较大的需求,因此水华的发生不会受到磷的限制,通过 SPSS 的 Correlate 数据分析也表明正磷酸盐和叶绿素 a 之间、总磷和叶绿素 a 之间均没有显著的相关性。

从表 2 还可以看出,这个池塘中铵氮含量是非常高的,在整个水华发生期内铵氮的波动范围为  $0.25 \sim 22.22 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,平均值高达  $5.96 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。前文已经提到,尽管池塘中氮、磷的含量都很高,但是氮、磷的比值远低于 16,因此,可以认为微囊藻水华消长发生受氮的限制;就氮而言,铵氮是藻类所能够优先利用的氮源<sup>[5,10,11]</sup>,统计分析也表明叶绿素 a 和铵氮呈正相关(显著水平为 82%),所以,可以认为铵氮是这个池塘中微囊藻水华的主要影响因子。

如前所述,微囊藻水华集中发生在 5~10 月这段时间,而在 5 月 23 日至 8 月 16 日之间有 3 个最明显的生长峰(图 1)。水华的过程一般由起始期、暴发期和消退期 3 个阶段组成,起始阶段被认为是最重要的<sup>[12]</sup>,因此我们就水华起始时的铵氮浓度对水华形成产生的影响进行了分析(见表 3)。

表 3 清楚地显示出 3 个水华上升阶段起始铵氮的浓度都较高,达  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  左右。已有人通过对比其他研究者长期监测的数据发现,在蓝藻开始大量繁殖的水体中,溶解氮的含量显著高于不发生水华的水体<sup>[13]</sup>。Christina 等对巴西 Paranoa 水库的调查也发现,高氮的水体中易暴发铜绿微囊藻水华<sup>[14]</sup>。而铵氮是藻类所能够优先利用的氮源<sup>[4,8,10]</sup>。据此我们认为,正是高浓度的铵氮启动了池塘中铜绿微囊藻水华的暴发,启动的浓度大约在  $9.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  左右。

表 2 部分理化因子的测量数据

日期	水温/°C	正磷酸盐/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	总磷/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	铵氮/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	总氮/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
04-11	19	0.77	—	5.25	5.58
04-19	22	0.54	1.00	0.98	1.18
04-26	21	0.69	1.00	1.13	1.34
05-10	25	1.07	2.25	6.01	6.15
05-17	16	1.26	2.03	0.65	0.84
05-23	28	1.14	1.65	10.80	10.89
06-07	28	0.74	1.70	0.25	0.40
06-13	27	0.75	1.80	0.50	0.55
06-21	28	0.13	0.99	8.00	8.10
06-27	29	0.42	1.33	9.51	9.55
07-08	29	0.65	1.45	8.25	8.39
07-11	30	0.64	1.09	7.00	7.09
07-20	29	1.15	2.17	5.00	5.10
07-26	32	0.28	1.10	4.85	5.01
08-02	30	0.60	1.07	0.89	1.00
08-09	30	0.46	1.10	10.00	10.10
08-16	30	0.70	0.89	12.50	12.74
08-23	33	0.31	3.00	22.22	22.39
08-30	27	0.52	1.83	9.75	9.95
09-07	22	0.69	1.40	7.75	7.96
09-13	24	0.78	1.20	6.25	6.56
09-19	27	1.48	2.20	5.68	5.74
09-27	25	2.34	10.20	6.78	6.82
10-10	26	0.66	1.40	2.77	3.03
10-17	17	0.57	0.80	3.63	3.73
10-24	19	0.57	1.20	2.55	2.70
10-31	16	0.62	0.90	4.06	4.31
11-14	12	0.62	1.70	3.97	4.13

表 3 3 个水华上升阶段起始铵氮的含量与藻类生物量

时期	水华上升阶段	维持天数/d	生物量差值 <sup>a)</sup> 叶绿素 a/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	平均上升速率 (生物量差值/维持天数)	上升阶段起始铵氮 浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
1	05-23 ~ 06-13	21	0.66	0.03	10.80
2	06-27 ~ 07-08	12	1.32	0.11	9.51
3	08-09 ~ 08-16	8	0.98	0.11	10.00

a) 水华上升阶段内终点与起点叶绿素 a 的差值

但值得一提的是,并不是全部观测期中池塘铵氮的浓度都很高,在个别的时间铵氮的水平是较低的,我们有 4 d 检测到铵氮浓度低于  $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (表 4)。

铵氮浓度分别为  $0.65$  和  $0.89 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  之后的一周内,铜绿微囊藻既没有表现出快速的生长,也没有发生快速的死亡(表 4,图 1)。而当铵氮的浓度降至  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时(6 月 13 日),伴随发生的就是水华的快速消退。曾有文章指出藻类生长所要求的铵氮的含量最低值为  $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  [15]。

表4 低铵氮时藻类生物量的变化

时期	日期	铵氮含量/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	一周内生物量的差值叶绿素 a/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
1	05-17	0.65	0.01
2	06-07	0.25	0.49
3	06-13	0.50	-0.64
4	08-02	0.89	-0.10

由此,我们推测铵氮在  $0.89 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  左右对铜绿微囊藻生长产生限制作用,在这个限制点附近时,铜绿微囊藻只能缓慢地生长或趋于死亡;而当铵氮浓度低于  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时水华就会快速消退。比较特殊的是时期2,尽管当天的铵氮浓度很低,仅为  $0.25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,但一周内水华的生物量还是大幅度增加了,不排除这一周内营养元素的大量排入。

至于水华的消退情况,我们整理如表5。

表5 水华消退时生物量的变化

时期	消退期	维持天数/d	生物量差值 <sup>a)</sup> 叶绿素 a/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	平均消退速度 <sup>b)</sup>
1	06-13 ~ 06-21	9	-0.64	-0.07
2	07-08 ~ 07-11	4	-1.32	-0.33
3	08-16 ~ 08-23	8	-0.96	-0.12
4	08-23 ~ 09-13	21	-0.23	-0.01

a) 水华消退期内终点与起点叶绿素 a 的差值; b) 生物量差值/维持天数

关于时期1,我们在前面已分析是由于较低浓度的铵氮引发的。对于时期2和时期3这两个消退速度较快的过程,由于这两个时期起点处的氮、磷的含量均较高(总氮分别为  $8.39$  和  $12.74 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,总磷分别为  $1.45$  和  $0.89 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ),所以不能将这类消退归结为营养物质的缺乏,而应将其理解为生长达到峰值以后的自然的消退。时期4则是水华缓慢消退的过程,在这个过程中最值得注意的是8月23日的铵氮浓度,高达  $22.22 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,以及8月30日到9月7日的降温过程。如前文所述,低温不利于微囊藻的生长。而过高浓度的铵氮也会对藻的生长产生抑制作用<sup>[15]</sup>。但是,高浓度的铵氮是否也能够抑制微囊藻的生长,这个抑制的浓度下限又应该是多少,这些都有待于进一步的探讨。

总的来说,铵氮对微囊藻生长的作用主要表现在,较高浓度的铵氮可以促成水华的爆发性生长,而当铵氮浓度较低时,水华的生长就会受到限制,如果铵氮浓度更低则会导致水华的快速消退。

**2.1.3 与其他理化因子的关系** 经测定 pH 值、电导、硝氮、亚硝氮等理化因子以及叶绿素 a 的含量。并运用 SPSS 的 Correlate 分析表明叶绿素 a 的含量和这些理化因子之间没有显著的相关性。

## 2.2 水华毒性的变化

经小白鼠腹腔注射法检测藻样的毒性,观察到小白鼠有明显的肝毒素中毒症状,可以认为藻样的毒性是由肝毒素引起的。

为直接反映毒性大小,我们将  $\text{LD}_{50}$  转换成  $1000/\text{LD}_{50}$  制成曲线,见图2。

从图2中可以清楚地看出,在4个月的水华发生期中,毒性表现出了逐步上升的趋势,而

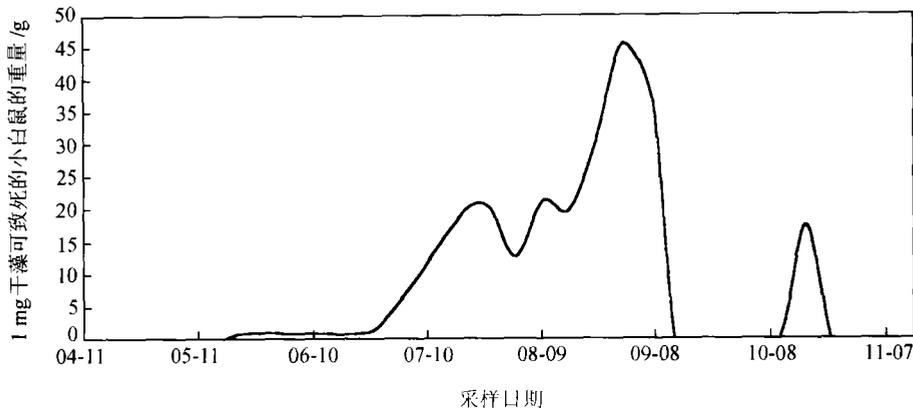


图 2 毒性的变化曲线

这个上升的过程又可划分为 4 个阶段,我们将这 4 个阶段的数据列于表 6 中.

表 6 藻毒性的变化

阶段	时间起点	时间终点	毒性变化范围 $LD_{50}/mg \cdot kg^{-1}$
1	05-23	06-21	> 1000
2	06-27	06-27	485
3	07-08	08-15	47 ~ 99
4	08-23	09-07	22 ~ 33

应用 SPSS 的 Correlate 分析表明,藻毒性的大小和水华发生的时序正相关,显著水平为 100%,也就是说,水华在发生的最初阶段是不产毒的,随着水华的形成毒性才逐步增大,而到水华将要完全消亡时毒性才达到最大. Lee 在研究不同氮磷比条件下微囊藻的生长与产毒特性时观察到微囊藻细胞中毒素的含量和叶绿素 a 的含量密切相关,他甚至认为微囊藻细胞中毒素的含量可以通过测定培养液中活体的荧光变化来推算<sup>[9]</sup>. Rao 在使用多种培养基培养铜绿微囊藻的过程中也发现,细胞中毒性的大小随着生长的过程逐步升高<sup>[16]</sup>. 其他学者在实验室条件下通过研究在一个生长周期内微囊藻产毒的变化情况,得出的一般结论是,铜绿微囊藻的毒性是随着时间的推移而增加的,到稳定期达到峰值,然后迅速降低<sup>[17,18]</sup>,我们的结果与此相似. 但我们所观察到的水华毒性增大的现象是在相对较长的时间内发生的,即整个水华的发生期,而在这个时期内,水华经历了多次消长的过程.

将微囊藻的生长曲线(图 1)与其毒性大小的变化曲线(图 2)比较后我们还发现毒性峰总是滞后于生长峰,而且是水华的生物量越大则滞后的时间越长(表 7).

表 7 毒性峰与生长峰的比较

生长峰	生长峰日期	生物量叶绿素 a/ $mg \cdot L^{-1}$	毒性峰	毒性峰日期	滞后天数/d
1	07-08	1.44	A	07-26	18
2	08-02	0.42	B	08-09	7
3	08-16	1.30	C	08-30	14

相对于最为突出的两个生长峰(峰1,3),毒性峰滞后了约半个月,而相对于生物量较小的生长峰(峰2),毒性峰滞后的时间为一周。我们推测,这样一个滞后的现象很可能是由于从开始产毒或产毒速度增加到毒素能够在细胞内积累到一定的量之间需要一定的时间的缘故。

根据上述分析,我们认为毒性的阶段性变化及产毒滞后的情况有助于预测毒性大小的变化趋势;更重要的是,微囊藻生长峰下降之后藻细胞积聚的毒素量反而最大,这容易使我们想到微囊藻产毒在生态学上的某种特殊功能。很多资料都曾指出过最适宜铜绿微囊藻生长的条件往往不是最适宜产毒的条件<sup>[16~19]</sup>,而且往往是在低于生长所需的营养元素的浓度下产毒量会增加。Maja 等认为,微囊藻不会白白浪费大量的能量和物质来生产像微囊藻毒素这样的结构如此复杂的代谢产品,因此推测这种代谢物对藻本身很可能承担着独特的重要功能<sup>[12]</sup>。当铜绿微囊藻的生长达到顶峰的时候,营养元素的匮乏、竞争者和捕食者的压力这些最常见的逆境也就随之出现了;此时微囊藻细胞内毒素积累加快,并随细胞的破裂大量释放到水体中,这样可以抑制或毒杀竞争者和捕食者<sup>[20,21]</sup>,改变水生生态系统中浮游动物的竞争关系<sup>[22]</sup>,与此同时,微囊藻由于水华的崩溃,将营养元素重新释放到水中,结合微囊藻毒素的生态作用,从而改变逆境,恢复自身生长乃至重新形成水华。

综上所述,该富营养化水体中磷与水华的发生没有相关性,铵氮对微囊藻水华的消亡起着主导作用,很低浓度的铵氮使水华快速消退,较低浓度的铵氮不足以支持水华的形成,较高浓度的铵氮可以促成水华的暴发,而更高的浓度则抑制微囊藻的生长。除此以外,我们还发现,在水华的发生过程中,其毒性呈明显的逐步升高的趋势,并且毒性峰总是出现在生长峰之后,这些现象表明产毒和生长之间存在某种内在的联系,产毒的生态作用至少是抵御其他生物、恢复藻类生长。为了进一步阐明微囊藻快速生长和产毒的生理功能和生态机理,我们拟在实验室条件下和小型模型池塘中控制各种条件开展系统研究。

## 参 考 文 献

- 1 Padhi S B. *Algal Ecology-An Overview*. India: International Book Distributor, 1995. 131 ~ 148
- 2 Whitton B A, et al. *The Ecology of Cyanobacteria*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000. 149 ~ 194
- 3 Nagai S, et al. *Harmful and Toxic Algal Blooms*. Sendai: UNESCO, 1996. 239 ~ 242
- 4 吴鹏鸣,等. 环境水质监测质量保证手册. 北京: 化学工业出版社, 1984. 13 ~ 14
- 5 吴新儒,等. 淡水养殖水化学. 北京: 农业出版社, 1981. 85 ~ 98
- 6 Eley J H. Effect of carbon dioxide concentration on pigmentation in the blue-green alga *Anacystis nidulans*. *Plant & Cell Physiol*, 1971, 12: 311
- 7 Dow C S, et al. Release and degradation of microcystin during a *Microcystis aeruginosa* bloom in a fresh water reservoir. In: *Proceedings of the First International Symposium on Detection Methods for Cyanobacterial Toxins*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1993. 158 ~ 160
- 8 Sas H. *Lake Restoration by Reduction of Nutrient Loading: Expectations, Experiences, Extrapolations*. St Augustin: Academia Verlag Richarz, 1989. 497
- 9 Lee S J, et al. Variation of microcystin content of *Microcystis aeruginosa* relative to medium N:P ratio and growth stage. *J Appl Microbiol*, 2000, 89(2): 323
- 10 Darley W M. *Algal Biology: A Physiological Approach*. London: Blackwell Scientific Publications, 1982. 42
- 11 Ward A K, et al. Interactions of light and nitrogen source among planktonic blue-green algae. *Arch Hydrobiol*, 1980, 90: 1

- 12 Lukac M, et al. Influence of trace metals on growth and toxin production of *Microcystis aeruginosa*. *Toxicon*, 1993, 31: 293
- 13 Braj N P, et al. *Algal Indicators of Water Pollution*. Dehra Dun: Gajendra Singh Gahlot Press, 1996. 190
- 14 Christina W C, et al. Factors influencing the development of *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Microcystis aeruginosa* in the Paranao Reservoir. Brasilia, Brazil. *Archiv fur Hydrobiologie*, 1994, (Suppl)105: 85
- 15 韩茂森, 等. 淡水生物学. 北京: 农业出版社, 1981. 234
- 16 Rao P V, et al. Effects of nutrient media and culture duration on growth, macromolecular composition and toxicity in batch cultures of *Microcystis aeruginosa*. *Microbios*, 1996, 86(347): 95
- 17 Codd G A, et al. Cyanobacteria toxins in water. *Water Sci Technol*, 1989, 21(3): 1
- 18 van der Westhuizen, et al, Effect of culture age and pH of culture medium on the growth and toxicity of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa*. *Z Pflanzenphysiol*, 1983, 110: 157
- 19 Watanabe M F, et al. Effects of enviromental factors on toxicity of cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* under culture conditions. *Appl Environ Microbiol*, 1985, 49: 1342
- 20 Nizan S, et al. Acute toxic effects of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on *Daphnia magna*. *Limnol Oceanogr*, 1986, 3: 497
- 21 何家苑, 等. 有毒铜绿微囊藻对鱼和蚤的毒性. *湖泊科学*, 1997, 9(1): 49
- 22 Fulton R S, et al. Effects of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* on zooplankton competitive relations. *Oecologia*, 1988, 76: 383