

# 温度对外源性<sup>32</sup>P在水、铜绿微囊藻和底泥中迁移的影响\*

史小丽<sup>1\*\*</sup> 王凤平<sup>1</sup> 蒋丽娟<sup>1</sup> 周治<sup>1</sup> 杨柳燕<sup>1</sup> 孔志明<sup>1</sup> 高光<sup>2</sup> 秦伯强<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 南京大学环境学院 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 南京 210093; <sup>2</sup> 中国科学院南京地理与湖泊研究所, 南京 210008)

**【摘要】** 采用同位素示踪法, 在实验室模拟研究不同温度下外源性无机磷酸盐在水、铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 和底泥中的迁移过程. 外源性<sup>32</sup>P加入水中后, 首先是一种与温度无关的快速物理化学分配, 大量溶解性磷酸盐迅速进入底泥和微囊藻中. 随后水中<sup>32</sup>P的迁移主要受微囊藻生长状况的影响. 温度升高有利于微囊藻的生长, 并提高了微囊藻吸磷的速度. 微囊藻中最大外源性磷浓度只与水环境中的初始磷浓度有关. 25℃时铜绿微囊藻的生长曲线有7d的对数期, 没有明显的稳定期就转入衰亡期. 在25℃时, 当微囊藻超积累P到一定程度后, 其对数生长同细胞内含P量无关. 随着时间的推移, 外源性<sup>32</sup>P不断向底泥中迁移, 实验末期所有的<sup>32</sup>P都转移到底泥中. 提高温度使水中溶解性外源性磷的下降速率加快, 7d后水中溶解的外源性磷浓度低于0.00716 mg L<sup>-1</sup>.

**关键词** 铜绿微囊藻 磷酸盐 水生态系统 温度 迁移 同位素示踪

**文章编号** 1001-9332(2003)11-1967-04 **中图分类号** X524 **文献标识码** A

**Effect of temperature on the translocation of exogenous <sup>32</sup>P in water column, *Microcystis aeruginosa* and sediments.** SHI Xiaoli<sup>1</sup>, WANG Fengping<sup>1</sup>, JIANG Lijuan<sup>1</sup>, ZHOU Zhi<sup>1</sup>, YANG Liuyan<sup>1</sup>, KONG Zhiming<sup>1</sup>, GAO Guang<sup>2</sup>, QIN Boqiang<sup>2</sup> (<sup>1</sup> State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, China; <sup>2</sup> Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China). -*Chin. J. Appl. Ecol.*, 2003, 14(11): 1967 ~ 1970.

Effect of temperature on the translocation of exogenous phosphorus in the simulative ecosystem composing of water, *Microcystis aeruginosa* and sediments was studied with the method of phosphorus isotope tracer. Exogenous <sup>32</sup>P was initially distributed rapidly in the ecosystems in a mode of physical chemistry, irrespective of the influence of different temperature. Then, the translocation of <sup>32</sup>P was significantly affected by the growth of *M. aeruginosa* in the ecosystem. Relatively high temperature was favorable to the growth of *M. aeruginosa* and accelerated the adsorption of exogenous phosphorus. The maximum concentration of exogenous endocellular phosphorus in *M. aeruginosa* was only related with the initial phosphorus concentration of water environment. The growth curve of *M. aeruginosa* contained short lag phase, 7-day log phase and decline phase but no obvious stationary phase at 25℃. After certain amounts of exogenous phosphorus were accumulated in *M. aeruginosa*, its growth was independent of the amounts of endocellular phosphorus at 25℃. The exogenous <sup>32</sup>P moved from water and *M. aeruginosa* to sediment continuously and almost all of them transferred into sediment through the sedimentation of *M. aeruginosa* at the end of the experiment. The concentration of dissoluble exogenous <sup>32</sup>P declined rapidly when water temperature was high and was less than 0.00716 mg L<sup>-1</sup> after 7 days.

**Key words** *Microcystis aeruginosa*, Phosphate, Aqueous ecosystem, Temperature, Translocation, Isotope tracer.

## 1 引言

近年来,随着工农业生产迅速发展,大量外源性营养源不断输入太湖水体,导致其富营养化程度不断加剧,已严重威胁到太湖流域地区经济的持续增长和人民的健康.太湖水华爆发时,铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 是优势种群.因此,研究外源性P在模拟水生态系统中的迁移过程,探索微囊藻生长和外源性P的关系,对认识水华爆发机理有

着重要的意义,也为水体富营养化的防治提供理论依据.虽然不少学者对湖泊中P的循环和藻类的生长进行了研究<sup>[4,6,7,10,12,13]</sup>,但是还未见有关环境因素对外源性P在水体中迁移影响的报道.本试验采用同位素示踪法,研究不同温度对外源性磷酸盐在模拟水生态系统中迁移的影响.

\*中国科学院知识创新项目(KZCX2-403).

\*\*通讯联系人.

2002-03-15收稿,2002-05-20接受.

## 2 材料与方法

### 2.1 藻种

铜绿微囊藻取自中国科学院武汉水生生物研究所,保存在 pH 值为 8.6 的 MA 培养基中<sup>[8]</sup>,培养条件为温度 25 ℃、光暗比 10:14、光强度 2200 Lx. 试验前期将处于对数生长期的微囊藻转移到无磷的 MA 培养基中培养 3d,使藻细胞处于磷饥饿状态.

### 2.2 底泥

在 2001 年 9 月,用彼得森采泥器采集位于中国科学院太湖湖泊生态系统研究站附近湖区的表层沉积物,底泥样品在现场进行混合,且低温(4 ℃)保存.

### 2.3 同位素

$\text{Na}_2\text{H}^{32}\text{PO}_4$  由中国原子能研究院同位素所提供.

### 2.4 仪器

采用 BECKMAN LS9800 液体闪烁计数器测定样品的放射性强度.

### 2.5 试验方法

**2.5.1 模拟水生态系统** 模拟水生态系统是由水、铜绿微囊藻和底泥组成的简单水生态系统. 取底泥 100ml 置于 500ml 的烧杯中,在低温(4 ℃)黑暗条件下静置 48 h,用虹吸管小心抽去上层水样,将预先准备好的 300ml 水样沿烧杯壁缓慢加入(不搅动沉积物表层),然后加入磷饥饿的铜绿微囊藻. 水样也采用 MA 培养基,但用放射性  $\text{Na}_2\text{H}^{32}\text{PO}_4$  代替 -甘油磷酸钠作为磷源, $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  的浓度为  $10\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,TP 为  $2.183\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,放射强度为  $109150\text{DPM}\cdot\text{ml}^{-1}$ . 微囊藻的初始浓度在  $10^6\text{cell}\cdot\text{ml}^{-1}$  左右. 模拟生态系统分别放置于 5 ℃、15 ℃、25 ℃ 的光照生化培养箱静止培养,光暗比 10:14,光强度 2200 Lx. 每组设 3 个平行样,试验进行 10d.

**2.5.2 取样测定方法** 用取样器移取 0.5ml 含铜绿微囊藻水样,在  $10000\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  的离心机中离心 15min,上清液移入闪烁测量瓶中,沉降的微囊藻用无放射性的培养液反复冲洗,直到冲洗液中的放射性强度达到背景值为止. 冲洗过的微囊藻用 0.2ml 60%  $\text{HClO}_4$  和 0.4ml 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  在 80 ℃ 消化 60min,消化产物移入闪烁瓶中. 在所有样品中都加入 5ml 的甲苯闪烁液,然后在液体闪烁器上测量. 根据放射性同位素的强度(扣除自然衰变的影响)来反映样品中外源性磷的浓度. 采用显微镜计数法测定铜绿微囊藻的密度,微囊藻重量根据系数  $0.132\times 10^{-6}\text{mg dw}\cdot\text{cell}^{-1}$  换算<sup>[5]</sup>. 底泥中的外源性磷的数量根据质量守恒定律计算.

## 3 结果与讨论

### 3.1 不同温度对铜绿囊生长的影响

不同水温下,铜绿微囊藻在模拟水生态系统中的生长特性见图 1. 铜绿微囊蓝细菌过去一直从藻类学的角度加以研究,称为铜绿微囊藻,后来研究发现它的细胞结构同真细菌一样,属于原核生物,是蓝

细菌(*Cyanobacteria*)中的一种,它具有光合作用能力,是产氧的光合细菌. 由图 1 可见,铜绿微囊藻在不同水温条件下,其生长曲线差别很大. 水温为 5 ℃和 15 ℃,微囊藻在试验开始 1d 内略有上升,其浓度达到  $1.3\times 10^6\text{cell}\cdot\text{ml}^{-1}$ ,然后一直下降;水温为 25 ℃时,微囊藻没有明显的延迟期,1~7d 内处于生长对数期,水中最大浓度达到  $8.7\times 10^6\text{cell}\cdot\text{ml}^{-1}$ ,7d 后处于衰亡期. 铜绿微囊藻的生长曲线没有明显的稳定期,这与一般细菌生长曲线不同.

铜绿微囊藻的生长繁殖与水温有很大相关性. 过低或过高的水温都不利于铜绿微囊藻的生长,一般认为,铜绿微囊藻生长的最佳水温在 28 ℃左右,因此,自然水体中其水华都在水温较高的夏季和秋初爆发. 水温低于 15 ℃时,由于铜绿微囊藻进入一个新的水环境,可能出现一种应急反应,使微囊藻细胞繁殖速率大于其衰亡速度,从而刚开始时细胞数量略有上升. 随后,低温环境使其繁殖速率小于衰亡

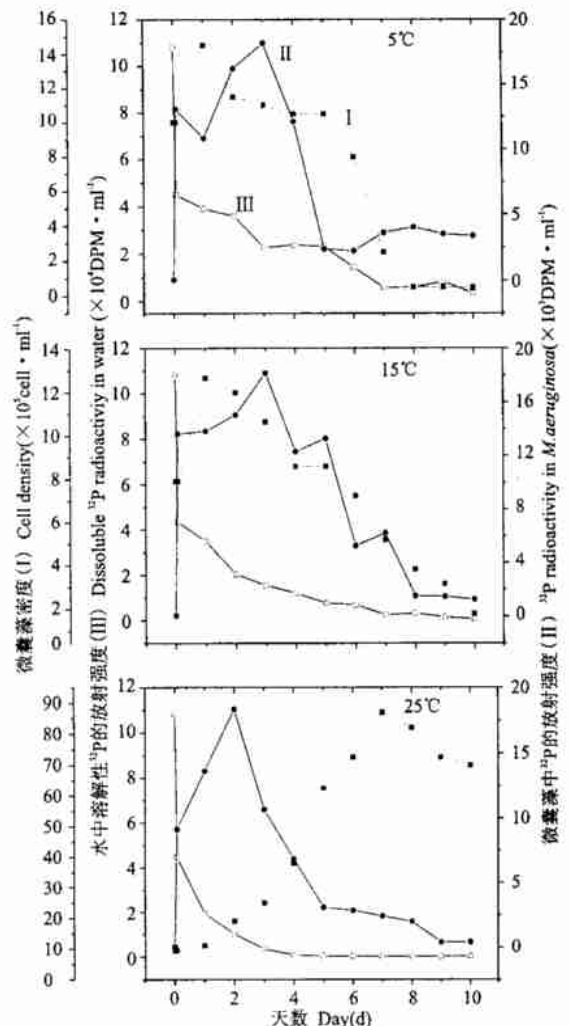


图 1 不同水温下铜绿微囊蓝细菌生长和外源性磷在水体中的迁移  
Fig. 1 Growth of *M. aeruginosa* and translocation of exogenous phosphorus within aqueous ecosystem at different water temperature.

表 1 水中溶解性<sup>32</sup>P放射强度随时间变化的方程

温度 Temperature( )	线性方程 Linear equation	相关系数(r) Corresponding correlation
5	$\ln Y = 10.74 - 0.18t$	- 0.95
15	$\ln Y = 10.68 - 0.33t$	- 0.99
25	$\ln Y = 10.68 - 0.67t$	1 - 0.99

速度,细胞数量下降.这同 Westhuizen<sup>[14]</sup>得到铜绿微囊藻在 16 的生长曲线有很大差异,这可能与铜绿微囊藻的来源不同有关.另外,低温使微囊藻的运动能力下降,有利于其沉降,加速了微囊藻从水中消失的速率.

### 3.2 温度对水中溶解性磷浓度的影响

在不同的水温条件下,随着铜绿微囊藻生长特性的不同,外源性磷从水向底泥和藻中迁移的速率也有所变化.水中外源性磷浓度随时间不断减少.在试验开始的 10min 内,水中溶解性外源性磷浓度迅速下降,很快迁移到微囊藻和底泥中,这种迁移几乎不受外界条件的影响.随后外源性磷在水中的浓度逐渐降低,达到平衡的时间与温度有关.温度低,达到平衡的时间长,温度高达到平衡的时间短.在 5 和 15 时,7d 后逐渐趋向平衡,水中溶解的外源性磷浓度分别为 0.118 和 0.0487 mg · L<sup>-1</sup>.在 25 时,4d 后逐渐趋向平衡,水中溶解的外源性磷浓度为 0.00716 mg · L<sup>-1</sup>.因此,本试验中温度对水中外源性磷浓度的影响主要集中在试验开始后的 7d 内,对这一时段水中溶解性磷酸盐的放射强度(Y)取自然对数,得到随时间(t)变化的直线方程  $\ln Y = a - bt$ , b 值的大小能定量地反映温度对水中溶解性磷酸盐浓度变化影响的大小(表 1).结果表明,水温高,水中溶解性磷酸盐浓度下降速度快.因此,温度能加速水中外源性磷向底泥和微囊藻中迁移.

### 3.3 温度对铜绿微囊藻中外源性磷酸盐含量的影响

铜绿微囊藻中外源性磷浓度在开始的 10min 内迅速增加,并随时间而逐渐增大,在不同温度下,其最大值都达到 18000 DPM · mg<sup>-1</sup>左右,尔后逐渐下降,最终趋向平衡.只是在 5 和 15 时,3d 后达到最高值,而 25 时,在 2d 后就能达到最大值(图 1).试验结果表明,温度对铜绿微囊藻对外源性磷的最大吸收量无明显影响,但是影响其吸收速率,铜绿微囊藻对磷的吸收速率随温度上升而提高.

铜绿微囊藻中总的外源性磷占添加磷的比率见图 2.在 5 和 15 时,由于铜绿微囊藻细胞数略微增加后就持续下降,因此,总的外源性磷含量变化趋势同单位重量微囊藻中外源性磷的变化趋势一致.

它只吸收水中溶解性的磷,而不是底泥中的磷.在 25 时,由于藻的生长,其吸收的外源性磷的总量最大.同时,吸收能力强,使水中溶解的外源性磷数量大副度下降,最后使溶解性磷浓度低于 0.00716 mg · L<sup>-1</sup>.因此,即使添加的外源性磷浓度大大高于进入太湖水体的实际浓度,藻的生长也能使溶解性磷浓度不断下降,最后达到同太湖水体溶解性磷浓度相似的水平<sup>[2]</sup>.

从图 1 和图 2 可以发现,铜绿微囊藻对水中溶解性磷的吸收可分为两个阶段,一是快速物理吸收,二是慢速生物化学吸收.铜绿微囊藻能合成聚合磷酸盐,并对水中的磷酸盐具有过量吸收的能力.其吸收的机制为:在外界溶解性磷酸盐浓度高的时候,采

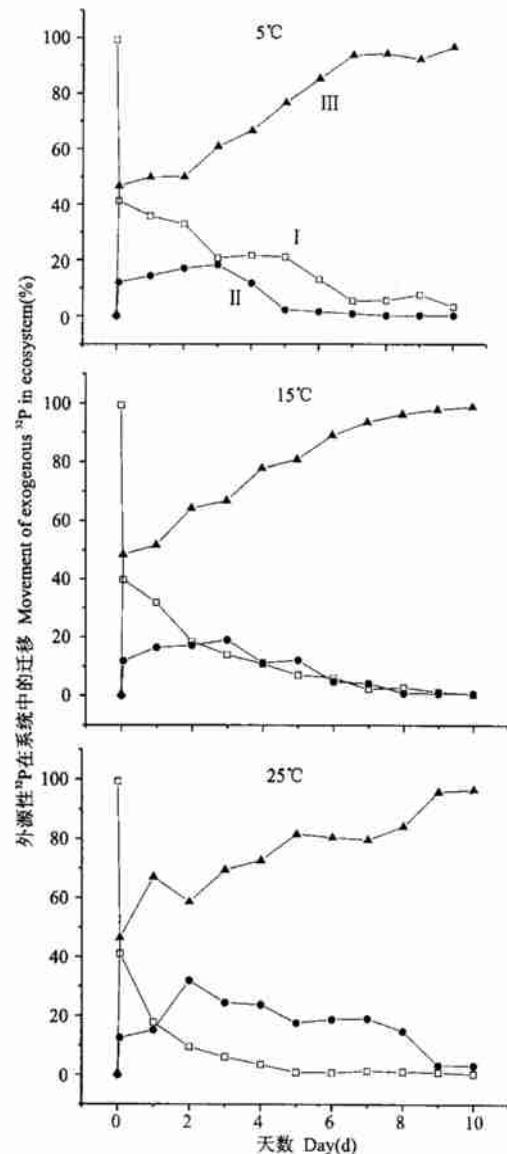


图 2 不同水温下外源性<sup>32</sup>P在水体、铜绿微囊藻和底泥中的迁移过程  
Fig. 2 Translocation of exogenous <sup>32</sup>P in water column, *Microcystis aeruginosa* and the sediments at different water temperature.

□. 水样 Water column, ●. 铜绿微囊藻 *Microcystis aeruginosa*, ▲. 底泥 Sediment.

用扩散的方式吸收磷,本试验所用的铜绿微囊藻是磷饥饿的,因此,在开始的 10min 内有快速的吸收能力.在外界磷酸盐浓度低于 1.0 mol 时,采用的是主动运输方式,需要生物化学反应的参与,因此,对磷酸盐的吸收速度比较慢<sup>[1,3,4,7]</sup>.由于藻细胞中磷含量取决于基质中磷酸盐的浓度<sup>[1]</sup>,所以,在相同起始磷酸盐的浓度下,铜绿微囊藻中最大磷含量相同,而不受水温变化的影响.

比较 25 时微囊藻生长曲线与细胞中总外源性 P 含量可以发现,只要藻在延迟期和对数期的初期吸收了一定数量的外源性 P,其后的生长速率就与藻细胞中 P 含量无关<sup>[3]</sup>,单位细胞中外源性 P 的数量在急剧下降,但是微囊藻细胞数却在呈对数增加.这也许能解释为什么太湖湖水中虽然溶解性磷浓度很低<sup>[2]</sup>,但是,只要环境条件适宜,铜绿微囊藻经过一段时间的 P 积累,就有可能爆发水华.

### 3.4 不同温度下外源性磷在模拟水生态系统中迁移过程

由图 2 可以看出,在加入外源性磷的 10min 内,水中磷酸盐迅速分配到藻和底泥中,铜绿微囊藻中达到添加总量的 12%,在底泥中达到 47%,水中溶解性的外源性磷滞留 41%,这期间的迁移与温度无关,是一种快速的物理化学作用.随后水中磷酸盐的百分含量随时间逐渐下降,然后达到平衡,温度越高,达到平衡的时间越短.水中减少的外源性磷酸盐一部分被藻吸收,另一部分直接进入底泥中.吸收磷的衰亡藻细胞通过沉降作用进入底泥,从而使其吸收的磷也迁移到底泥中.因此,底泥中的磷的比例一直呈上升趋势,最后几乎所有的外源性磷都迁移到底泥中.在 25 时,底泥中磷含量在第 2d 有一个下降,这可能与藻的生长有关.藻在对数生长初期对磷的需求量增加,可能产生有关的酶或代谢产物使其利用底泥中不溶性的磷,从而满足其生长需要.而水温为 5 和 15 时,因藻基本不繁殖,因此,不需要与底泥竞争磷.

高温厌氧有利于底泥放磷<sup>[9,15]</sup>,本文模拟的水生态系统是一个好氧系统,底泥的表面呈好氧状态,因此,即使在水温为 25 时,水中磷的浓度也很低,未见底泥的放磷现象.外源性磷开始是同底泥中的金属离子进行化学反应或通过吸附而进入底泥的.然后,主要通过微囊藻的作用迁移到底泥中,也就是说,水生生物对底泥中磷的积累起到重要作

用<sup>[7,11]</sup>.本试验也许能解释为什么首先在太湖的梅梁湾地区发生水华的原因,因为在有入水的湖湾,水体中的藻能逐渐吸收入水中的磷,使藻中磷含量不断提高,在其他环境因子如温度、水的扰动和光照等适宜的时候,就可能爆发水华.衰亡的藻细胞沉降到底泥中,使湖湾底泥中磷浓度大大高于敞水区域底泥中磷浓度.在一定条件下,一旦底泥厌氧放磷,也有可能爆发水华.

### 参考文献

- Berman T and Skyring GW. 1979. Phosphorus cycling in aquatic microorganisms studied by phased uptake of <sup>33</sup>P and <sup>32</sup>P. *Current Microbiol.* (2): 47 ~ 49
- Chen Y-W(陈宇炜), Gao X-Y(高锡云), Chen W-M(陈伟民), et al. 1998. Growth characters and pure culture of *Microcystis* from Taihu Lake. *J Lake Sci (湖泊科学)*, 11 (4): 351 ~ 356 (in Chinese)
- Fujimoto N and Sudo R. 1997. Nutrient-limited growth of *Microcystis aeruginosa* and *Phormidium tenue* and competition under various N P supply ratios and temperatures. *Limnol Oceanogr*, 42 (2): 250 ~ 256
- Halmann M and Stiller M. 1974. Turnover and uptake of dissolved phosphate in freshwater. A study in Lake Kinneret. *Limnol Oceanogr*, 19 (5): 774 ~ 783
- Johnston NAL, Campagna VS, Hawkins PR, et al. 1994. Response of the eastern rainbowfish (*Melanotaenia duboulayi*) to toxic *Microcystis aeruginosa*. In: Jones G ed. *Cyanobacterial Research*. Australia: CSIRO Cataloguing in Publication Entry. 187 ~ 193
- Lean DRS, White E. 1983. Chemical and radiotracer measurements of phosphorus uptake by lake plankton. *Can J Fish Aquat Sci*, 40: 147 ~ 155
- Levine SN, Stainton MP, Schindler DW. 1986. A radiotracer study of phosphorus cycling in a eutrophic Canadian shield lake, Lake 227, Northwestern Ontario. *Can J Fish Aquat Sci*, 43: 366 ~ 377
- Oh H, Lee SJ, Jang M, Yoon B. 2000. Microcystin production by *Microcystis aeruginosa* in a phosphorus-limited chemostat. *Appl Environ Microbiol*, 66 (1): 176 ~ 179
- Redshaw CJ, Mason CF, Hayes CR, Roberts RD. 1990. Factors influencing phosphate exchange across the sediment-water interface of eutrophic reservoirs. *Hydrobiologia*, 192: 233 ~ 245
- Rigler FH. 1956. A tracer study of the phosphorus cycles in lake water. *Ecology*, 37: 550 ~ 562
- Syers J K, Harris RF, Armstrong DE. 1973. Phosphate chemistry in lake sediments. *J Environ Qual*, 2: 1 ~ 14
- Wang GL(王桂林), Han M(韩梅), Tang Z-W(唐忠武), Zhang X-H(张新华). 1991. Cycling rate of the phosphorus in water from Dianchi Lake. *Environ Chem (环境化学)*, 10 (5): 28 ~ 34 (in Chinese)
- Wang GL(王桂林), Han M(韩梅), Wang G-Y(王国仪). 1991. Uptake rate of dissolved phosphate by plankton Lake Dianchi. *Chin Environ Sci (中国环境科学)*, 11 (2): 113 ~ 119 (in Chinese)
- Westhuizen AJ van der and Eloff JN. 1985. Effect of temperature and light on the toxicity and growth of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* (UV-006). *Planta*, 163: 55 ~ 59
- Yin D-Q(尹大强), Tan Q-R(覃秋荣), Yan H(阎航). 1994. Effects of environmental factors on release of phosphorus from sediments in Wuli Lake. *J Lake Sci (湖泊科学)*, 6 (3): 240 ~ 244 (in Chinese)

作者简介 史小丽,女,1977 年出生,博士研究生,主要从事环境微生物学研究,发表论文 8 篇. E-mail: shixiaoli.nju@263.net