

RONGZAO XIJUN FANGZHI SHUIHUA

溶藻细菌防治水华 可行性研究

KEXINGXING YANJIU

王金霞 著

 郑州大学出版社

RONGZAO XIJUN FANGZHI SHUIHUA

溶藻细菌防治水华 可行性研究

KEXINGXING YANJIU

王金霞 著



 郑州大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

溶藻细菌防治水华可行性研究 / 王金霞著. — 郑州:
郑州大学出版社, 2017. 10
ISBN 978-7-5645-4890-2

I. ①溶… II. ①王… III. ①藻类水华—生态防治—
可行性研究 IV. ①Q949.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 260092 号

郑州大学出版社出版发行

郑州市大学路 40 号

出版人: 张功员

邮政编码: 450052

全国新华书店经销

发行部电话: 0371—66966070

郑州泰宏印刷有限公司印制

开本: 710 mm × 1 010 mm 1/16

印张: 10.5

字数: 127 千字

版次: 2017 年 10 月第 1 版 印次: 2017 年 10 月第 1 次印刷

书号: ISBN 978-7-5645-4890-2 定价: 32.00 元

本书如有印装质量问题, 由本社负责调换

前 言

随着水体富营养化现象的日益严重,有害藻类水华频繁暴发,探索行之有效的抑藻和除藻途径极为迫切,用溶藻细菌防治水华作为一种新的生物控藻手段显示出了广泛的应用前景。水生生态系统中,细菌和微型藻类是数量最多、分布最广的生物。细菌作为水生生态系统中生物种群结构和功能的重要组成部分,对维持藻类生物量的平衡具有非常重要的作用。近年来国内外关于细菌溶藻的报道越来越多。在利用物理、化学和其他生物方法防治水华效果不甚理想的情况下,利用溶藻细菌防治水华已成为一个新的研究方向,引起越来越多国内外研究者的关注。

溶藻细菌(algicidal bacteria)是指通过直接或间接方式,抑制藻类生长或杀死藻类、溶解藻细胞的细菌的统称。部分研究者认为水华的突然消亡可能与溶藻细菌的感染有关,通过对水华的消失过程的观察,发现有多种微生物着生在水华藻类上,并能分解藻类,因此推断这些微生物与水华的消失可能有很大关系,并开始了有关细菌溶藻的研究。

本书的研究人员从三峡库区暴发水华的河流中分离出一株溶藻细菌,命名为 S7。本书以导致水华暴发的代表性蓝绿藻为研究对象,研究了该菌的溶藻特性、探讨了溶藻机理并分析了溶

藻效应的影响因素,并据此推测细菌 S7 的溶藻机理,得出结论后对此项技术在防治水华可行性应用方面进行了展望。

本书的研究工作得到了重庆大学城市建设与环境工程学院的资助,以及其他横向研究课题的支撑,在此向支持和关心作者研究工作的所有单位和个人表示衷心的感谢。另外,还要感谢多年的师长和同仁的帮助和支持,感谢出版社同仁为本书出版付出的辛勤劳动。书中有部分内容参考了有关单位和个人的研究成果,均已在参考文献中列出,在此一并致谢。

由于作者水平所限,虽几经改稿,但书中的错误和缺点在所难免,欢迎广大读者不吝赐教。

编 者

2017 年 6 月

目 录

1 绪 论	001
1.1 藻类水华概述	001
1.1.1 藻类水华的定义与危害	001
1.1.2 藻类水华的成因	006
1.2 藻类水华防治方法研究进展	011
1.2.1 物理方法除藻	011
1.2.2 化学方法除藻	013
1.2.3 生物方法除藻	015
1.3 溶藻细菌研究进展	018
1.3.1 溶藻细菌的种类	019
1.3.2 溶藻细菌的作用方式	021
1.3.3 溶藻细菌胞外溶藻物质的研究	023
1.4 研究的提出与主要研究内容	025
1.4.1 研究的提出、研究目的及意义	025
1.4.2 主要研究内容	027
2 细菌 S7 溶藻特性研究	028
2.1 材料与方法	029
2.1.1 试验材料	029
2.1.2 试验方法	033
2.2 结果与分析	036

2.2.1 荧光光谱法测定蓝藻生物量的结果与分析	036
2.2.2 溶藻细菌添加体积分数对溶藻效果的影响	041
2.2.3 细菌 S7 作用范围和溶藻效力	042
2.3 讨论	047
2.4 小结	050
3 细菌 S7 作用方式的研究	052
3.1 材料与方法	052
3.1.1 试验材料	052
3.1.2 试验方法	053
3.2 结果与分析	054
3.2.1 普通光学显微镜观察溶藻过程	054
3.2.2 应用扫描电镜观察溶藻过程	056
3.2.3 溶藻细菌 S7 的作用方式	059
3.3 讨论	060
3.4 小结	062
4 细菌 S7 对藻细胞生理的影响	063
4.1 材料与方法	064
4.1.1 试验材料	064
4.1.2 试验方法	065
4.2 结果与分析	068
4.2.1 细菌 S7 对铜绿微囊藻叶绿素 a 含量的影响	068
4.2.2 细菌 S7 对铜绿微囊藻藻蓝蛋白的影响	070
4.2.3 细菌 S7 对铜绿微囊藻细胞红外吸收光谱的影响	070
4.2.4 细菌 S7 对铜绿微囊藻荧光特性的分析	072
4.2.5 细菌 S7 对藻细胞抗氧化系统的影响	082
4.3 讨论	084
4.4 小结	088

5 细菌 S7 胞外溶藻活性物质的分离及初步鉴定	090
5.1 材料与方法	091
5.1.1 材料	091
5.1.2 试验方法	092
5.2 结果与分析	094
5.2.1 分离特性	094
5.2.2 溶藻物质纯化	096
5.2.3 溶藻物质鉴定	097
5.3 讨论	099
5.4 小结	102
6 环境因子对细菌 S7 溶藻效应的影响	104
6.1 材料与方法	105
6.1.1 试验材料	105
6.1.2 单因素试验设计	105
6.1.3 响应面试验设计	106
6.2 单因素试验结果与分析	107
6.2.1 不同温度条件对溶藻效果的影响	107
6.2.2 不同光照条件对溶藻效果的影响	108
6.2.3 不同 pH 条件对溶藻效果的影响	109
6.3 响应面试验结果与分析	110
6.3.1 确定因素水平	110
6.3.2 确定试验点	111
6.3.3 二次回归拟合及方差分析	112
6.3.4 响应面分析	114
6.3.5 最佳点求解与模型验证	118
6.4 小结	119

7 溶藻细菌控藻试验	120
7.1 材料与方法	120
7.1.1 试验材料	120
7.1.2 试验方法	121
7.2 结果与分析	122
7.2.1 细菌浓度对溶藻效果的影响	122
7.2.2 叶绿素 a 含量对溶藻效果的影响	123
7.2.3 响应面法研究叶绿素 a 含量和细菌浓度对去除率的影响	124
7.2.4 水槽试验	128
7.3 小结	129
8 结论与展望	131
8.1 结论	131
8.2 展望	133
参考文献	136

1 绪 论

1.1 藻类水华概述

水体富营养化是当今世界各国所面临的水污染问题之一。而随着水体富营养化的日益严重,藻类水华的暴发已成为许多富营养化湖泊和水体面临的挑战,因此对藻类特别是有害藻类的控制受到各国专家的高度重视。研究藻类水华发生的规律、探索经济有效、绿色的防治方法和手段,对于保护水体环境、维护人类健康以及环境可持续发展,具有非常重要的科学意义和广阔的应用前景。

1.1.1 藻类水华的定义与危害

(1) 藻类水华的定义

水华的定义繁多,因富营养化与藻类水华的内在联系,也常用富营养化来定义水华,目前国内外对水华和富营养化的定义有以下几种。

① 水体富营养化通常是指湖泊、水库和海湾等封闭性或半封闭性水体以及某些河流水体的氮、磷营养元素的富集,水体生产力提高,某些特征藻类(主要为蓝藻、绿藻)异常增殖,使水质恶化的过程^[1]。

② 2003 年美国环保局发起了“圆桌讨论”,达成了对富营养



化与藻类水华联系的一致意见:富营养化水体污染使水质品质退化,导致许多有害藻类水华的持续发生,是世界各国水华不断加重的原因之一。水华的高生物量增长必须有持续不断的外在营养。慢性的和间断的营养输入促进了有害藻类水华的发生^[2]。

③水华有两个共性,由微型藻类引发且对人类产生危害,在成因、动态和影响因素等方面有多面性^[3]。

④水体发生富营养化时,因占优势的浮游生物颜色不同,水面往往呈现出不同颜色。在近海中,夜光藻、无纹多藻等占优势,藻层呈红色,被称为“赤潮”;而在江河湖泊中,蓝藻、绿藻、硅藻等占优势,并在水体表层大量聚集,形成藻类聚合物,称为“水华”或“水花”^[4]。

⑤国外常用有害藻类水华(harmful algal boons, HABs)来定义水华,是指水体中有害藻类如蓝藻、硅藻等一系列浮游植物的快速生长与繁殖现象^[5]。

综合国内外研究结论,可以认为由于水体富营养化导致氮、磷等营养物质过度输入水体中,在适宜的水文、气象条件下,水体中某些或某种优势藻类大量繁殖并聚集,打破了水体的生态平衡,降低了水体的透明度,从而引起水质的生态异常和水质恶化的现象称之为藻类水华。

(2)藻类水华的危害

目前,世界上湖泊蓝藻水华暴发的频率与严重程度都呈现迅猛增长的趋势,发生地点遍布全球各地,面积逐年扩散,持续时间也逐年延长。表 1.1 为水华藻类的调查,调查结果显示,富营养型湖泊以蓝藻和绿藻为主^[6,7]。

表 1.1 国内外湖库常见优势藻类

Table 1.1 Phytoplankton dominant species in some studies

研究地点	优势种	文献来源
Riga 湾	春季以水华束丝藻为优势种	[8]
Chukchi & Beaufort 海	春季以硅藻为优势种, 夏季以 <i>prasinophytes</i> 、 <i>haptophytes</i> 和硅藻为优势种	[9]
Lagoa Santa 湖	蓝藻门的拉氏拟柱孢藻	[10]
西湖	蓝藻占绝对优势, 优势种有颤藻、中华尖头藻等	[11]
太湖	蓝绿藻, 如铜绿微囊藻	[12-13]
滇池	微囊藻和束丝藻为优势藻属	[14-15]
三峡库区	硅藻、蓝藻和绿藻为常见优势种	[16-19]

一旦发生藻类水华, 将对水体和生态环境及生物体健康产生严重的危害, 主要表现在以下几个方面。

①破坏水生生态系统^[20-23]。水华发生时, 有害藻类大量增殖, 聚集在水面使水体透明度下降, 阳光难以穿透至深层水体, 导致深层水生植物的光合作用受到限制, 由于水体中溶解氧的来源减少, 水生植物窒息进而影响无脊椎动物和鱼类的生存。藻类死亡后的腐烂分解过程也消耗水体中大量的溶解氧, 进而导致水体严重缺氧, 使水生生物难以生存。优势藻的爆发性增殖造成水体 pH 值改变^[24], 还会产生大量的有害气体和毒素, 使水体变色、变质, 黏稠度增大, 透明度降低, 加之某些优势藻类大量繁殖, 使水生生物的多样性和稳定性降低, 水生生态系统失衡。原有的生态系统结构与功能遭到破坏的水体包括非洲的维多利亚湖、北美洲的伊利湖、中国的太湖、欧洲的波罗的海等^[25]。



②释放有毒物质,危害健康。表 1.2 为藻类产生的藻毒素及对人体健康的危害,另据报道,世界各地 25%~75% 的蓝藻水华都可以产生毒素^[26],目前已知产藻毒素的种属有微囊藻属(*Microcystis*)、鱼腥藻属(*Anabaena*)、颤藻属(*Oscillatoria*)、束丝藻属(*Aphanizomenon*)和节球藻属(*Nodularia*)等。这些藻类在生长代谢过程中,会产生大量的生物毒素,并释放到自然水体中,这些物质一旦进入生物体会对其健康产生巨大的危害,如引起鱼类等水生生物发生病变,人类由于误食受到毒素污染的食物或者饮用含有毒素的水体会引发中毒。自 1878 年报道了泡沫节球藻(*Nodularia spumigena*)水华能引起家畜和禽类中毒以来,又证实引起动物中毒甚至死亡的蓝藻约有 10 多种。1976 年,在美国宾夕法尼亚州约 62% 的人口受到水源性消化道疾病的影响,研究者认为疾病的来源是饮用水中的蓝藻;1996 年,南非的肌肉死亡事件^[27]和福建东山岛的多人中毒事件均与藻毒素有关。

表 1.2 藻类产生的藻毒素及对人体健康的危害

Table 1.2 Toxin producers and their negative effects on human beings

毒 性	藻 类	文献来源
Paralytic shellfish poisoning (PSP; 麻痹性贝类中毒)	<i>Dinoflagellates</i> (沟鞭藻)	[28-30]
Neurotoxic shellfish poisoning (NSP; 神经毒性贝类中毒)	<i>Dinoflagellates</i> (沟鞭藻)	[29, 30]
Diarrhetic shellfish poisoning (DSP; 腹泻性贝毒素)	<i>Dinoflagellate</i> / <i>Cyanobacteria</i>	[20, 28, 29]
Amnesic shellfish poisoning (ASP; 遗忘贝类中毒)	<i>Diatoms</i> (硅藻)	[29, 31]
Hepatotoxicity (肝中毒)	蓝藻/微囊藻	[20, 29]
Growth inhibition (影响生长和发育)	<i>Raphidophyceae</i> (针胞藻)	[2, 28]

③影响水处理设施,降低用水质量和增加水处理成本。近年来,我国饮用水源的富营养化问题日趋严峻,灾害性蓝藻水华频繁发生,直接威胁到城市供水安全^[32]。水华发生后,优势藻会聚集在滤池表面形成一层很密实的覆盖物,阻止水的流通,滤池堵塞,反冲水量增加,使运行周期缩短,产水量下降,从而导致运行成本增加^[33]。此外浮游生物体内具有油质,呈悬浮状态,因此沉淀困难,不易处理,而进入管网的藻类和生物成为微生物繁殖的基质,造成管网水质恶化,并加速配水系统的腐蚀和结垢,使管网服务年限缩短^[34]。很多蓝绿藻分泌的黏液还会使配水管网中出现“后絮凝”现象,此种黏液又可能转化为三氯甲烷的母体,即使把它们絮凝成块,使之降解也非常困难。另外,有些藻类可产生微量的有毒、有害物质,需要选择特定的工艺才可去除,不仅提高了处理成本,还降低了用水的质量。例如,2007年太湖蓝藻水华引发的无锡地区长达数天的饮用水危机。

④损害水产养殖业。藻类水华时,主要通过以下几种方式危害水生生物:a.藻类生物分泌黏液或死亡分解后产生黏液,附着在鱼虾贝类等生物的鳃上,使它们窒息死亡;b.虾贝类吃了有毒藻类后,在体内直接或间接积累发生中毒死亡;c.藻类生物大量繁殖,使水体中的溶解氧锐减,导致水生动物大批量的窒息死亡,从而使水产养殖业经济遭受损失;d.藻类在夜间会大量消耗水中的溶解氧,死亡后在残体分解过程中,进一步消耗水中的氧气,同时产生羟氨或硫化氢等有害气体,危害渔业;e.一些蓝藻的水华还会产生毒素危害养殖业。

⑤影响旅游观光和航运。藻类散发出腥臭味并且在水面大量聚集,严重影响了观光旅游和航运。蓝藻在合适的环境条件下

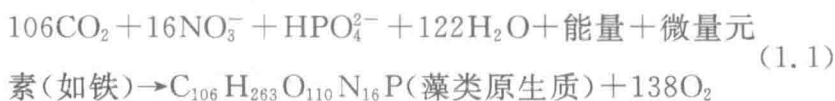


迅速繁殖,形成一层厚厚的绿色漂浮物,严重时甚至会妨碍船只行进。蓝藻死亡后分解,漂浮在水面,散发出难闻的气味,破坏水质,影响湖泊的娱乐性。

1.1.2 藻类水华的成因

藻类水华的发生是多种因素共同作用的结果,长期以来,国内外开展了大量有关水华成因方面的研究,总结如下。

(1)氮、磷的过量排放是造成藻类水华的根本原因,过多的营养物(主要是氮、磷)输入到水体中引起富营养化^[3,35-38]。水华藻类的大量繁殖必须要有充足的营养物质基础,水体富营养化为藻类水华的发生提供了必要的化学基础,氮和磷通常被认为是限制藻类生长最普通的营养盐。在合适的光照、水温、pH 值和营养盐充足的条件下,藻类光合作用的总反应式如下。



根据 Leibig 最小因子定律,氮和磷显然是限制因子。水体中氮、磷等营养物质过量增加是发生水华现象的最重要的物质基础,也是影响藻类水华的首要因素。因此水体富营养化是导致藻类水华发生的最直接的因素。当水体中氮、磷浓度超过 0.2 mg/L 和 0.02 mg/L 时,藻类就会大量繁殖,发生水华^[39]。

有研究表明,在多数的水体中浮游藻类的生物量与水体中营养盐浓度变化的趋势是一致的。2002 年美国佛罗里达州环保局在排放的磷酸盐废水中发现若干有害藻类,其中硅藻是此水体中分布最广的有害藻,且越靠近排放点浓度越高,证明磷酸盐为藻类生长提供了必要的营养^[40]。陈中兵^[41]研究了不同氮、磷质量

浓度对盘星藻生长的影响,结果表明不同的氮、磷质量浓度对盘星藻的生长均具有较大影响。低氮质量浓度对盘星藻的生长影响大,随氮质量浓度的增加,刺激盘星藻增长的作用增强;当外加氮质量浓度升高到一定程度后,对盘星藻生长的促进作用依然明显。低磷质量浓度对藻的比增长率影响大,随磷质量浓度的增加,刺激盘星藻增长的作用有一定加强;当磷质量浓度升高到一定程度后,对盘星藻生长的促进作用不大。Vezie 等^[42]研究表明氮、磷在微囊藻水华的形成过程中起了关键作用。也有研究表明,过高的氮、磷质量浓度有时却起抑制作用,这与藻类的生长特点有关^[43],这就是中度富营养化的水体会发生水华^[44-45],而营养盐质量浓度高的湖泊或鱼塘没有暴发水华^[46]的原因之一。对水华藻类而言,氮、磷是维持藻类生长所必需的营养因子,但不同藻类对氮、磷的吸收存在较大差异^[47]。然而由于条件的限制,不同研究者对藻类生物量、生产力与水体营养盐之间关系的研究差异很大。一些研究者^[48]认为水体中营养盐浓度的增加会导致藻类生物量、生产力的显著增加,而另一些研究者^[49]则认为水体中藻类的生物量与水体营养盐浓度之间不具有显著的相关性。赵孟绪等^[50]通过对影响蓝藻水华发生的主要因子进行分析发现,汤溪水库蓝藻的生长基本不受氮、磷质量浓度的影响。氮磷比对藻类水华的暴发也有一定影响,一般认为,水体中适合浮游藻类生长的 N:P 为 15:1,也有学者认为,由磷负荷增加所导致的低氮磷比(<20)会促进水华的形成。但不同的藻类生长所需的氮磷比不同,而且水体中的氮磷比会影响藻类之间的竞争及种群的演替,进而改变水体中藻类的结构组成。

对浮游藻类而言,其生长需要的营养盐元素还包括 C、P、K、



Ca、Mg、S 等多种植物营养元素,以及 Fe、B、Mn、Zn、Mo、Si 等系列微量元素^[51]。因此其他营养元素对藻类的生长也有一定的影响。

(2)藻类的生理条件是水华发生的内因,在植物分类学上将其列为藻类植物,是一种具有叶绿素,营自养生活,没有真正根、茎、叶的分化,以单细胞或孢子进行繁殖,也叫孢子植物或叶状体植物。淡水藻类水华主要由蓝藻大量繁殖引起,例如鱼腥藻、束丝藻、念珠藻、节球藻、微囊藻和颤藻等。蓝藻对环境条件的要求为高温、低光照、流速缓慢的碱性水体,这使得蓝藻能在种间竞争中形成优势。与其他藻类相比,蓝藻对氮、磷具有较强的亲和力,能高效吸收和利用外源无机碳,部分蓝藻还具有固氮能力,这使得它们能够维持较大的生物量。此外,蓝藻本身具有伪空泡的独特结构,这使得蓝藻更容易在水面聚集。

①蓝藻在低氮、磷质量浓度条件下能够产生竞争优势

通过固氮功能形成水华的蓝藻如鱼腥藻(*Anabaena*)、水华束丝藻(*Aphanizomenon flosaquae*)、拟筒胞藻(*Cylindrospermopsis*)等,它们特有的异形胞能将大气中的游离态氮固定为可利用的氮源,供给其他营养细胞。因此在环境中外来氮源不足而水华所需磷充足时,它们比其他生物更具有竞争优势,易周期性地大量生长为优势种。施军琼等^[52]研究了不同浓度磷对水华束丝藻生理生态效应的影响,结果表明当磷浓度低于0.50 mg/L时,水华束丝藻产生磷营养胁迫,导致其光合作用受到抑制,呼吸作用增强,进而抑制其生长。只有磷浓度高于0.50 mg/L才能够保证水华束丝藻的正常生理特征。这些结果揭示了在低磷质量浓度条件下,水华束丝藻能通过光合作用和 APA 等生理反