扰动方式对太湖藻类胞外多糖浓度的影响

郭亚格[1,2], 田 伟[1,3], 杨桂军[4], 张宏亮[2], 汤祥明[1*]

1.中国科学院南京地理与湖泊研究所, 湖泊与环境国家重点实验室, 江苏 南京 210008
2.安阳师范学院资源环境与旅游学院, 河南 安阳 455000
3.安徽师范大学环境科学与工程学院, 安徽 芜湖 241003
4.江南大学环境与土木工程学院, 江苏 无锡 214122

摘要: 频繁的风浪扰动是影响大型浅水湖泊生态系统最重要环境因素之一. 为了解风浪扰动对富营养化大型浅水湖泊——太湖蓝藻 EPS (extracellular polysaccharide,胞外多糖)的影响,试验设置了对照组(不扰动)、间歇扰动组和持续扰动组 3 种处理组,研究扰动方式及理化因子对蓝藻 EPS 的影响. 结果表明: ①第 1~7 天,3 种处理组之间的 ρ(EPS)、ρ(sEPS) (soluble extracellular polysaccharide,溶解性胞外多糖)和 ρ(bEPS) (bound extracellular polysaccharide,固着性胞外多糖)差异均不显著($P>0.05$); 第 10~19 天,对照组的 ρ(EPS)、ρ(sEPS)和 ρ(bEPS)均显著低于间歇扰动组和持续扰动组($P<0.05$);第 19 天,持续扰动组的 ρ(sEPS)和 ρ(bEPS)均显著高于间歇扰动组($P<0.05$). ②3 种处理组的 ρ(EPS)及单位藻细胞 EPS 含量与 ρ(TDN) (TDN 为溶解性总氮)及 ρ(TDP) (TDP 为溶解性总磷)均呈显著负相关;3 种处理组的 ρ(EPS)与 ρ(SS) (SS 为悬浮颗粒物)均呈显著正相关;此外,两个扰动组的 ρ(EPS)均与藻细胞密度呈显著负相关. 研究显示,扰动在一定程度上促进了蓝藻 EPS 的分泌.

关键词: 扰动方式; 胞外多糖(EPS); 太湖; 理化因子
中图分类号: X52 **文章编号**: 1001-6929(2020)08-1830-08
文献标志码: A **DOI**: 10.13198/j.issn.1001-6929.2019.09.25

Effect of Disturbance on the Concentrations of Algal Extracellular Polysaccharide in Lake Taihu

GUO Yage[1,2], TIAN Wei[1,3], YANG Guijun[4], ZHANG Hongliang[2], TANG Xiangming[1*]

1.State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China
2.School of Resource Environment and Tourism, Anyang Normal University, Anyang 455000, China
3.School of Environmental Science and Engineering, Anhui Normal University, Wuhu 241003, China
4.Environment and Civil Engineering School, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

Abstract: Frequent disturbance from waves caused by wind is one of the most important environmental factors affecting the ecosystems of large shallow lakes. To explore the effects of disturbance on algal EPS (extracellular polysaccharide) in the large, shallow, eutrophic Lake Taihu, we carried out an experiment with three treatments, including control (undisturbed), intermittent disturbance and continuous disturbance. The results showed that: (1) There was no significant difference in ρ(EPS), ρ(sEPS) (soluble extracellular polysaccharides) and ρ(bEPS) (bound extracellular polysaccharides) among the three treatments over 1-7 days ($P>0.05$). Between 10 and 19 days, the ρ(EPS), ρ(sEPS) and ρ(bEPS) of the control group were significantly lower than those of in the intermittent disturbance group and the continuous disturbance group ($P<0.05$). On the 19th day, the ρ(sEPS) and ρ(bEPS) of the continuous disturbance group were significantly higher than those of the intermittent disturbance group ($P<0.05$). (2) The ρ(EPS) and EPS at unit algal cells of the three treatments were significantly negatively correlated with ρ(TDN) and ρ(TDP); the ρ(EPS) of the three treatments were significantly positively correlated with ρ(SS); in addition, the ρ(EPS) of the two disturbance groups were significantly negatively

收稿日期: 2019-06-26 **修订日期**: 2019-08-16
作者简介: 郭亚格(1999-),女,河南洛阳人,gygmiracle@163.com.
*责任作者,汤祥明(1976-),男,安徽繁昌人,副研究员,博士,主要从事水环境微生物分子生态学研究,xmtang@niglas.ac.cn
基金项目: 中国科学院前沿科学重点研究项目(No.QYZDJ-SSW-DQC008); 江苏省水利科技项目(No.2018001-2); 中国科学院南京地理与湖泊研究所"科创计划"项目(No.20184001638)
Supported by Key Research Project of Frontier Sciences, Chinese Academy of Sciences (No.QYZDJ-SSW-DQC008); Jiangsu Province Water Conservancy Science and Technology Project, China (No.2018001-2); 'Scientific Innovation Plan' of Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences (No.20184001638)

correlated with algal cell density. Our results show that disturbance can promote the secretion efficiency of EPS by algae.

Keywords: disturbance modes; extracellular polysaccharide; Lake Taihu; physicochemical factors

随着我国经济的快速发展,大量污染物排入河流和湖泊,导致水体富营养化现象日趋严重. 蓝藻水华是富营养化湖泊的重要表征之一,蓝藻水华频发,已成为我国面临的重大环境问题之一[1-3]. 研究[4]表明,部分蓝藻在生长过程中或外部环境胁迫条件下会分泌大量的 EPS (extracellular polysaccharide,胞外多糖),包括黏附在细胞外的 bEPS (bound extracellular polysaccharide,固着性胞外多糖)和释放到周围环境中的 sEPS (soluble extracellular polysaccharide,溶解性胞外多糖). 蓝藻 EPS 在维持生物量庞大的蓝藻生长和增殖中起着重要作用,EPS 的释放有利于藻细胞的聚集,聚集成团的藻细胞可以帮助蓝藻抵御外界的不良环境[5]. 研究证明,蓝藻胞外结合的多糖层能帮助其对抗脱水、吞噬作用、抗体识别和病毒的溶菌作用[6-7],还能使细胞附着在固体基质上以防止被流水冲走[8]. QIN 等[9]发现由于 EPS 的存在,中度或小的风浪扰动会导致藻细胞聚集成更大的群体,从而增加藻团的浮力,加速蓝藻水华的形成.

在自然水体中,当生存状况恶劣时,蓝藻会分泌 sEPS 和 bEPS,细胞表面的 EPS 层变厚[10]. Yim 等[11]研究表明,氮和磷缺乏能够刺激 EPS 的合成. Staats 等[12]研究发现,当藻细胞被接种到低浓度氮或磷培养基时,EPS 的分泌会受到激发. 研究[13-14]表明,氮、磷限制在一定程度上可以促进 EPS 的分泌. 风浪扰动对蓝藻 EPS 的形成也具有重要作用,水动力扰动会在很大程度上改变水体的理化性质[15-17],从而影响藻类 EPS 的分泌. 关于扰动对藻类 EPS 的影响,国内外学者进行了部分研究[18-19],但关于不同扰动方式对藻类 EPS 影响的研究还较少. 芮政等[20]研究表明,间歇扰动组的水华微囊藻 EPS 含量显著高于不扰动组,其原因可能是扰动作用对微囊藻细胞产生了刺激作用,引起藻细胞生理特征的改变,从而促进了 EPS 的分泌.

太湖是一个典型的大型浅水湖泊[21],面积为 2 338 km^2,平均水深为 1.9 m,最大水深不足 3 m[22-23]. 受亚热带季风和台风的影响,尤其是在夏秋季节,风浪扰动使湖水始终处于一个动态环境. 研究[24-25]表明,蓝藻水华的暴发与风浪扰动密切相关. 太湖由风浪引起的扰动属于间歇扰动. 该研究通过模拟试验,对比了间歇扰动、持续扰动和不扰动(对照组)3 种方式下太湖藻类 ρ(EPS)的差异,并探讨了扰动方式以及相关环境因子对蓝藻 EPS 的影响,为蓝藻水华暴发机理提供科学依据.

1　材料与方法

1.1　试验设置和样品采集

1.1.1　试验设置

试验在中国科学院太湖湖泊生态系统研究站生态室水池内进行. 以 9 只洗净晾干的 100 L 塑料水桶为试验容器. 在太湖边打捞发生水华时的藻类和湖水,蓝藻藻浆用 64 μm 尼龙网浓缩(经鉴定,蓝藻的比例占 85%以上,且微囊藻占蓝藻的绝大部分),随后添加适量蓝藻藻浆于上述水桶内,混匀后测定水桶中的 ρ(Chla),保持各水桶内 ρ(Chla)初始值在 110 mg/L 左右. 再向桶中加入氮、磷营养盐,使所有水桶中 ρ(TN)为 10 mg/L,ρ(TP)为 0.5 mg/L〔模拟了近 10 年太湖蓝藻水华暴发最严重的梅梁湾 N/P(氮磷比)的平均值,是梅梁湾 2000—2008 年 ρ(TN)、ρ(TP)平均值的 4 倍,其中 TN 和 TP 分别用 $NaNO_3$ 和 $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 配制〕. 在扰动组 6 只水桶的水面下 10 cm 处固定变频造浪泵(中山市捷宝电子电器有限公司,型号为 WP-60,功率为 60 W),使用 W1 经典造浪模式,扰动时获得水平方向的波浪,浪高约 5 cm,流量约为 330 L/min. 水体静置 1 d 后开始试验. 试验时,3 只水桶不扰动(对照组);3 只水桶每天扰动 6 h,时间为 10:00—13:00 及 16:00—19:00(间歇扰动组);其余 3 只水桶每天扰动 24 h(持续扰动组). 水桶悬挂放在有机玻璃房内的大型水池内,试验持续 19 d(2018 年 7 月 11—29 日).

1.1.2　样品采集

试验开始第 1、4、7、10、13、16、19 天,每天 08:00 左右采集约 1 L 水样,用于测定水体中的相关理化参数、ρ(EPS)及藻类相关参数等.

1.2　理化因子分析

试验期间,每天 08:30 使用多参数水质检测仪(YSI, 6600V2, 美国)测量水温及 ρ(DO). ρ(TDN)(TDN 为溶解性总氮)、ρ(TDP)(TDP 为溶解性总磷)、ρ(Chla)、ρ(SS)(SS 为总悬浮物)等水体中理化因子的测定参考《湖泊富营养化调查规范》[26]. 藻细胞密度(algae cell density, ACD)的测定参照李胜男等[27]的方法,利用流式细胞仪(FACSJazz, 美国 Becton Dickinson 公司)进行检测.

1.3　ρ(EPS)测定

ρ(EPS)的测定参照 YANG 等[10]的方法,将 EPS 分为 bEPS 和 sEPS 进行分别测定. 用移液管取混匀藻液 10 mL,冷冻 24 h 后取出溶解,用超声破碎机高频下破碎 15 min,质量配平,然后在 4 ℃、11 000 r/min 下离心 15 min,分离上清液和藻细胞,然后用移液枪吸取上清液用孔径为 0.45 μm 的滤膜过滤,滤液加入透析袋(截留分子量为3 500 u)置于去离子水中透析,用于测定 ρ(sEPS). 上述离心后的藻团加去离子水至 10 mL 摇匀,再加入 0.5 mg/L NaOH 溶液调节 pH 为 10,摇匀后置于 45 ℃温水水浴提取 4 h,然后在 4 ℃、11 000 r/min 下离心 15 min,取上清液用孔径为 0.45 μm 滤膜过滤后,滤液加入透析袋(截留分子量为3 500 u)置于去离子水中透析,然后用于测定 ρ(bEPS). 把所获得的两种滤液各取出 1 mL,加入 4 mL 蒽酮溶液,沸水水浴 10 min,冷却后用分光光度计测量 620 nm 波长处的吸光值,参照文献[28]中的方法,根据标准曲线计算 ρ(bEPS)和 ρ(sEPS). ρ(EPS)为 ρ(bEPS)与 ρ(sEPS)之和.

1.4 数据分析

该研究所有数据通过 Microsoft Excel 2016 软件录入,采用 R 3.5.2 和 Origin 2018 软件进行分析和制图. 因为数据不全是正态分布数据,故使用非参数 Kruskal-Wallis 秩和检验分析各参数在不同处理下是否存在显著性差异($P<0.05$ 为具有显著性差异).

2 结果与分析

2.1 扰动方式对蓝藻 ρ(EPS)的影响

试验过程中对照组、间歇扰动组和持续扰动组的 ρ(EPS)总体上均呈上升趋势〔见图 1(a)〕. 试验第 1~7 天,3 个处理组的 ρ(EPS)没有明显变化;第 7~10 天,3 个处理组的 ρ(sEPS)和 ρ(bEPS)均明显上升;第 10~19 天,持续扰动组的 ρ(sEPS)和 ρ(bEPS)变化趋势与对照组相似,均呈先降后升的趋势. 总体而言,对照组、间歇扰动组和持续扰动组的 ρ(EPS)分别由第 1 天的 1.24、1.04 和 1.24 μg/mL 增至第 19 天的 22.01、17.63 和 25.12 μg/mL,分别增加了约 18、17 和 20 倍. 非参数 Kruskal-Wallis 秩和检验结果表明,试验第 1~13 天,3 个处理组之间的 ρ(EPS)差异不显著($P>0.05$);第 16~19 天,对照组和持续扰动组的 ρ(sEPS)均显著高于间歇扰动组($P<0.05$),而 3 个处理组之间的 ρ(bEPS)仍无显著性差异($P>0.05$).

扰动会对生物量造成影响,进而影响单位藻细胞 EPS 含量,因此根据试验不同阶段每 mL 水体中藻类的细胞数,笔者计算了以 μg/(10^5 cells)为单位的

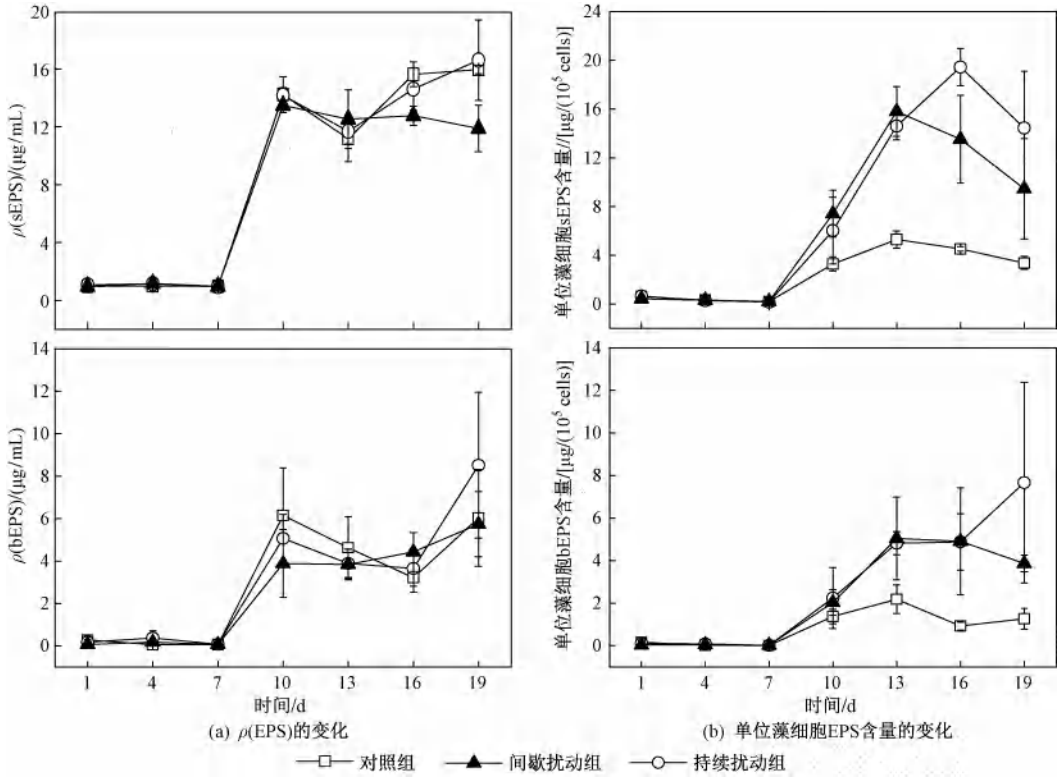

图 1 试验过程中各处理组 ρ(EPS)及单位藻细胞 EPS 含量的变化趋势

Fig.1 Changes of extracellular polysaccharide concentration and extracellular polysaccharides content of unit algal cells in each group during the experiment

EPS 含量变化趋势〔见图 1(b)〕. 试验期间,3 个处理组的单位藻细胞 EPS 含量在第 1~7 天无明显变化,第 7~19 天呈现先升后降的趋势,至第 19 天对照组、间歇扰动组和持续扰动组的单位藻细胞 EPS 含量分别为 4.63、12.03 和 22.10 μg/(10^5 cells). 非参数 Kruskal-Wallis 秩和检验结果表明:第 1~7 天,3 个处理组的单位藻细胞 EPS 含量差异不显著($P>0.05$);第 10~19 天,对照组的单位藻细胞 EPS、sEPS 和 bEPS 含量均显著低于间歇扰动组和持续扰动组($P<0.05$);至试验结束之时(第 19 天),持续扰动组的单位藻细胞 sEPS 和 bEPS 含量显著高于间歇扰动组($P<0.05$). 该结果表明,扰动尤其是持续扰动能促进蓝藻 EPS 的分泌.

2.2　试验过程中各处理组 ρ(sEPS)和 ρ(bEPS)占比的变化

对照组、间歇扰动组和持续扰动组中 ρ(sEPS)和 ρ(bEPS)在 ρ(EPS)中占比及单位藻细胞 EPS 含量的变化趋势见图 2. 非参数 Kruskal-Wallis 秩和检验结果表明,3 个处理组 ρ(sEPS)和 ρ(bEPS)占比之间无显著差异($P>0.05$). 3 个处理组的 ρ(EPS)在 1~7 d 均处于较低水平,随后对照组和间歇扰动组的 ρ(EPS)在 7~13 d 呈上升趋势,在 13~19 d 呈下降趋势,持续扰动组的 ρ(EPS)在 7~16 d 呈上升趋势,在 16~19 d 有所下降.

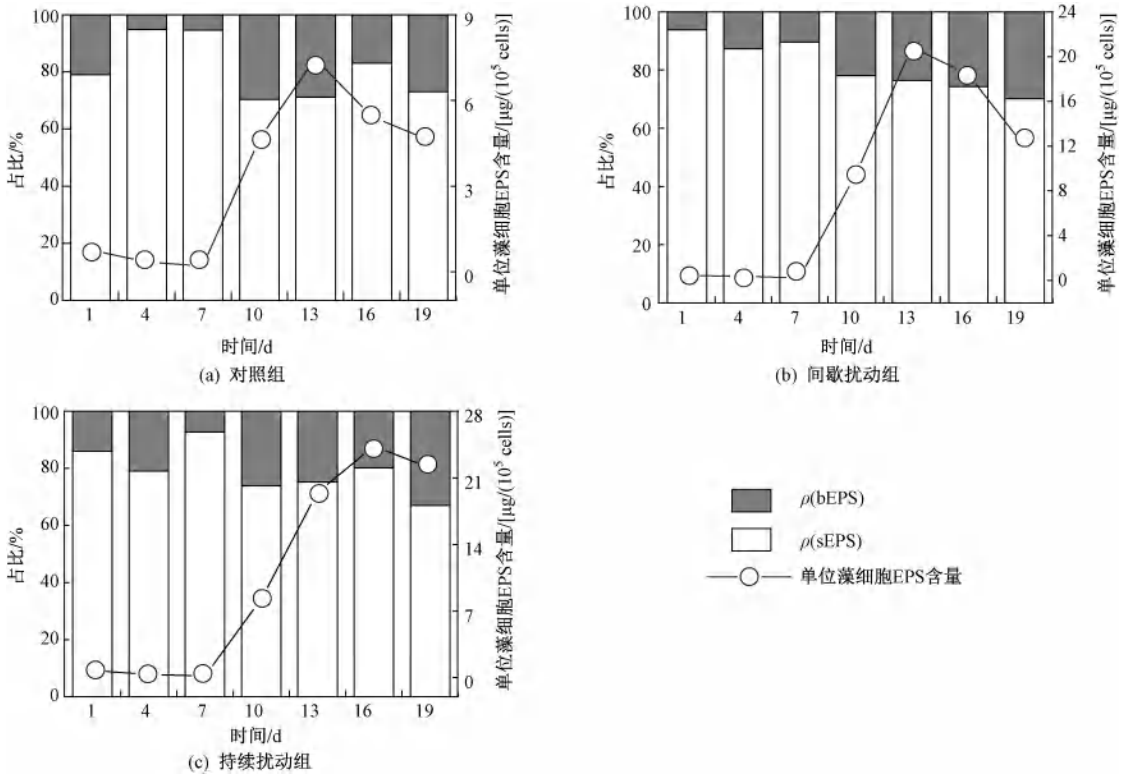

图 2　对照组、间歇扰动组及持续扰动组的单位藻细胞 EPS 含量以及 ρ(sEPS)和 ρ(bEPS)占比随时间的变化

Fig.2 Changes in extracellular polysaccharide content of unit algal cells, and the proportions of sEPS and bEPS with time in control group, intermittent disturbance group and continuous disturbance group

试验第 1~7 天,3 个处理组 ρ(sEPS)占比较高,而在第 10~19 天有所下降,但仍高于 ρ(bEPS)占比. 其中,对照组 ρ(sEPS)占比出现了两次波动,第一次波动(1~10 d)的顶峰为 94.9%(第 4 天),随后呈现下降趋势,在第 10 天降至 70.4%,第二次波动(10~19 d)的最大值为 83.1%(第 16 天),之后有所下降,到第 19 天降至 73.0%. 间歇扰动组中,ρ(sEPS)占比在第 1~7 天较高(87.3%~93.8%),随后呈现持续下降趋势,到第 19 天降至 76.3%. 持续扰动组中,ρ(sEPS)占比在 1~7 d 出现了一次小波动,由第 1 天的 86.0%降至第 4 天的 79.0%,随后在第 7 天增至 92.7%,而在第 7~19 天基本呈下降趋势,到第 19 天降至 67.0%.

2.3　理化因子与 ρ(EPS)的相关性

3 个处理组 ρ(DO)、ρ(TDN)、ρ(TDP)、ρ(Chla)、ρ(SS)和藻细胞密度的变化趋势见图 3. 由图 3 可见:

试验期间,对照组、间歇扰动组和持续扰动组的 ρ(DO)均有所下降,分别由 9.06、9.36 和 9.78 mg/L 降至 7.86、3.17 和 7.49 mg/L,对照组的 ρ(DO)在 1~4 d 呈上升趋势,而间歇扰动组和持续扰动组的 ρ(DO)在 1~4 d 呈下降趋势,随后处于较平稳的状态(4~19 d),且间歇扰动组的 ρ(DO)始终低于其余两组;3 个处理组的 ρ(TDN)和 ρ(TDP)在试验期间均呈下降趋势;3 个处理组的 ρ(Chla)在试验期间出现了一定幅度的波动,但总体上均呈上升趋势,其中持续扰动组的 ρ(Chla)始终高于其余两组;3 个处理组的藻细胞密度在试验过程中均出现了较明显的波动,其中第 10~19 天间歇扰动组和持续扰动组的藻细胞密度均低于对照组;对照组和间歇扰动组的 ρ(SS)在 1~7 d 均呈下降趋势,在 7~19 d 呈上升趋势,而持续扰动组的 ρ(SS)在试验过程中几乎呈持续上升趋势.

Spearman 相关性分析结果(见表 1)表明,

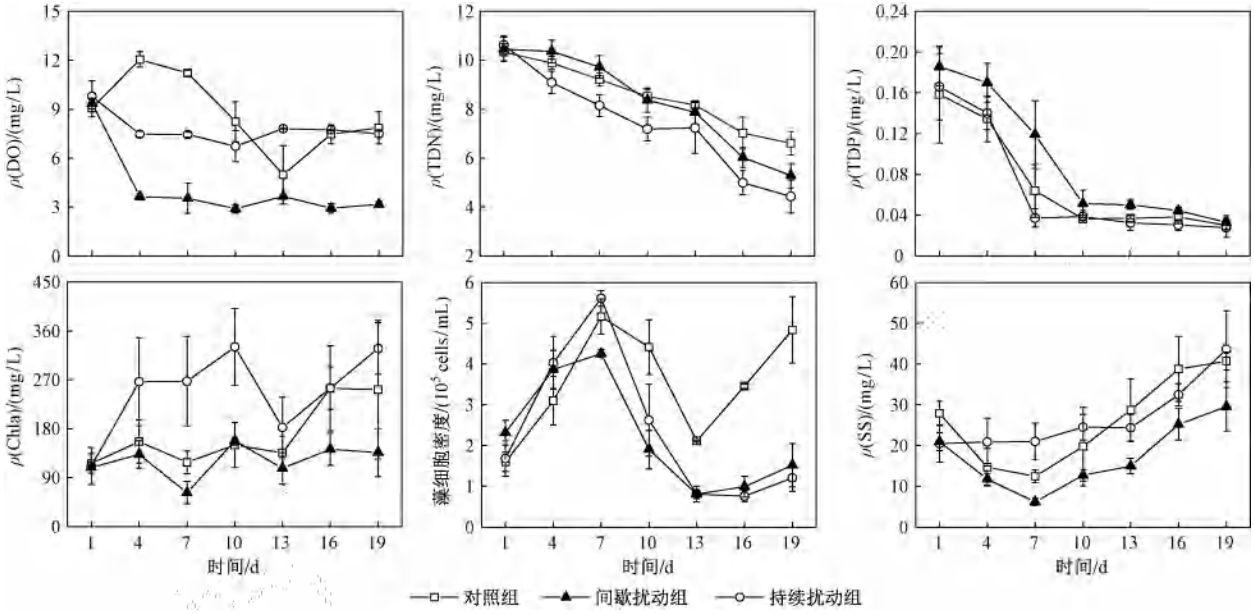

图 3 试验过程中各组主要理化因子的变化趋势

Fig.3 Trends in the main physical and chemical factors in different groups during the experiment

表 1 理化因子与各处理组水体 ρ(EPS)及单位藻细胞 EPS 含量的相关性

Table 1 Correlation of physicochemical factors with concentration of extracellular polysaccharides of each treatment group and extracellular polysaccharides content of unit algal cells

项目			ρ(DO)	ρ(TDN)	ρ(TDP)	ρ(Chla)	藻细胞密度	ρ(SS)
水体	对照组	ρ(EPS)	−0.70***	−0.86***	−0.77***	0.53*	0.27	0.60**
		ρ(sEPS)	−0.70***	−0.88***	−0.77***	0.52*	0.26	0.64**
		ρ(bEPS)	−0.63**	−0.72***	−0.69***	0.49*	0.27	0.44*
	间歇扰动组	ρ(EPS)	−0.54*	−0.84***	−0.90***	0.51*	−0.79***	0.50*
		ρ(sEPS)	−0.54*	−0.82***	−0.91***	0.48*	−0.81***	0.46*
		ρ(bEPS)	−0.52*	−0.89***	−0.85***	0.51*	−0.72***	0.63**
	持续扰动组	ρ(EPS)	−0.40	−0.81***	−0.67***	0.44	−0.64**	0.75***
		ρ(sEPS)	−0.40	−0.82***	−0.70***	0.42	−0.66**	0.72***
		ρ(bEPS)	−0.37	−0.72***	−0.56**	0.45*	−0.55*	0.77***
单位藻细胞	对照组	EPS 含量	−0.90***	−0.72***	−0.71***	0.32	−0.10	0.55**
		sEPS 含量	−0.90***	−0.74***	−0.71***	0.32	−0.11	0.59**
		bEPS 含量	−0.83***	−0.61**	−0.65**	0.27	−0.07	0.42
	间歇扰动组	EPS 含量	−0.44*	−0.74***	−0.79***	0.25	−0.87***	0.41
		sEPS 含量	−0.43*	−0.74***	−0.80***	0.23	−0.88***	0.40
		bEPS 含量	−0.43*	−0.79***	−0.76***	0.26	−0.82***	0.50*
	持续扰动组	EPS 含量	−0.22	−0.81***	−0.62**	0.16	−0.76***	0.67***
		sEPS 含量	−0.21	−0.80***	−0.63**	0.13	−0.77***	0.62**
		bEPS 含量	−0.22	−0.73***	−0.54*	0.22	−0.65**	0.71***

注:* 表示 $P<0.05$ 水平上显著相关;** 表示 $P<0.01$ 水平上显著相关;*** 表示 $P<0.001$ 水平上显著相关.

ρ(DO)、ρ(TDN)、ρ(TDP)、ρ(Chla)、ρ(SS)和藻细胞密度与 3 个处理组的单位藻细胞 EPS 含量均具有一定的相关关系. ρ(DO)与 3 个处理组的单位藻细胞 EPS 含量均呈负相关,与对照组相关性最为显著(R=-0.90,P<0.001),表明在ρ(DO)较低时,蓝藻会分泌较多的 EPS. ρ(TDN)、ρ(TDP)与 3 个处理组的单位藻细胞 EPS 含量均呈显著负相关,其中,ρ(TDN)与持续扰动组单位藻细胞 EPS 含量之间的负相关性最强(R=-0.81,P<0.001),ρ(TDP)与间歇扰动组单位藻细胞 sEPS 含量之间的负相关性最强(R=-0.80,P<0.001),表明ρ(TDN)、ρ(TDP)较低时有利于蓝藻 EPS 的形成. ρ(Chla)、ρ(SS)与 3 个处理组的单位藻细胞 EPS 含量均呈正相关,其中,ρ(SS)与持续扰动组的单位藻细胞 bEPS 含量之间的相关性最强(R=0.71,P<0.001),表明ρ(Chla)、ρ(SS)较高时能促进蓝藻分泌 EPS. 藻细胞密度与 3 个处理组的单位藻细胞 EPS 含量均呈负相关,其中,与间歇扰动组的单位藻细胞 sEPS 含量呈显著负相关(R=-0.88,P<0.001). 综上,理化因子对蓝藻 EPS 的形成起着非常重要的作用.

3　讨论

3.1　扰动方式对ρ(EPS)的影响

该研究结果显示,在 1~7 d,对照组和扰动组之间的ρ(EPS)无显著差异. 而刘玉等[29]研究发现,连续扰动 24 h 后,100 和 200 r/min 试验组ρ(EPS)显著高于对照组,50 和 400 r/min 试验组与对照组无显著差异,适度的扰动可以促使藻细胞ρ(sEPS)显著提高. 试验设置的扰动强度大小可能是导致该试验中 1~7 d 内ρ(EPS)差异不显著的原因之一. 此外,试验过程中收集的太湖藻类在试验大桶中可能都有为期一周的适应期. 在 10~19 d,对照组的ρ(EPS)、ρ(sEPS)和ρ(bEPS)均显著低于间歇扰动组和持续扰动组,这可能是经过一段适应期后扰动使藻细胞生理特征逐步改变,促进了 EPS 的分泌[20],从而使得两个扰动组单位藻细胞 EPS 含量较高. 而持续扰动对藻细胞产生的刺激作用更强烈,导致试验结束之时,该组的ρ(EPS)和ρ(bEPS)还显著高于间歇扰动组.

单位藻细胞 EPS 含量与生长周期密切相关,通常认为,藻类在其生长期内会不断地释放 EPS,并且进入静止期后释放量增大. 如图 2 所示,在 1~7 d,3 个处理组的单位藻细胞 EPS 含量没有明显变化,可能是因为在培养初期,藻细胞处于适应期,且此时水体中的氮、磷质量浓度较高,而高浓度的氮、磷营养盐又会抑制藻细胞 EPS 的分泌[5],致使单位藻细胞 EPS 含量较低. 随后 3 个处理组的单位藻细胞 EPS 含量均出现大幅上升,可能是因为在试验前期,随着藻类的生长 3 个处理组的ρ(TDN)、ρ(TDP)均呈下降趋势,使得氮、磷质量浓度在 7 d 后处于较低状态,而氮、磷质量浓度较低会促使藻类产生 EPS[12]. 试验后期 3 个处理组的单位藻细胞 EPS 含量呈下降趋势,可能是因为藻在新环境中适应了一段时间后多糖分泌量会减小[30]. 至试验结束之时,3 个处理组的单位藻细胞 EPS 含量均保持在较高水平,浦寅芳等[31]认为,培养时间对 EPS 产量有显著影响,藻细胞在生长中后期开始积累多糖,所以生长后期的单位藻细胞 EPS 含量明显高于生长前期.

从 EPS 形成的角度看,ρ(sEPS)和ρ(bEPS)的占比值得关注. 该试验结果显示,对照组的ρ(sEPS)占比呈现出先升后降的趋势,但第 19 天和第 1 天的ρ(sEPS)占比差别不大;而间歇扰动组和持续扰动组的ρ(sEPS)占比在试验过程中分别下降了 27%和 20%. 这可能是由于扰动刺激改变了藻类 EPS 在溶解态和固着态之间的分配,其具体机制有待进一步研究.

3.2　理化因子的变化对ρ(EPS)的影响

研究[32]表明,藻类在生长堆积或者衰亡腐烂时会消耗大量 DO,使水体产生缺氧甚至厌氧条件,而不利的生长条件是蓝藻大量分泌 EPS 的主要原因之一[33],即当水体处于缺氧或厌氧条件时会促使蓝藻分泌较多的 EPS,这可能是该研究中ρ(DO)与ρ(EPS)呈负相关的原因之一. 该研究发现,ρ(TDN)、ρ(TDP)与 3 个处理组的ρ(EPS)均呈负相关,氮、磷浓度较低会导致培养环境中 C/N 和 C/P 升高,进而促进蓝藻将多余的碳营养元素合成为 EPS 分泌到细胞外[34-36],使得ρ(EPS)上升. 氮、磷限制能显著提高蓝藻碳水化合物的合成,尤其是在氮限制条件下能够激发 sEPS 和 bEPS 等碳水化合物组分的提高[37]. Granum 等[38]也发现,当氮耗尽时,藻胞外多聚糖的分泌量增加,而极端的氮限制和磷限制会导致藻产生更多的胞外多聚糖. 代晓炫等[39]发现,氮、磷的增加造成了多糖含量的降低,这是因为氮、磷充足时光合作用的产物优先以蛋白质、RNA 的形式出现,从而导致多糖含量相对减少,该试验从另一方面证实了氮、磷质量浓度与ρ(EPS)均呈负相关的观点. 这种情况在其他藻类中也有发现,尤珊等[40]发现,低氮条件有利于微藻 EPS 的积累,氮缺乏导致光合效率降低,微藻对氮饥饿的反应是自身含氮大分子的降解,从而导致细胞氮含量的显著降低和多糖的积累. 该研究表

明,水体中DO、氮、磷质量浓度较低时能够促进藻类EPS的分泌.

ρ(Chla)与ρ(EPS)呈正相关,蓝藻细胞通过光合作用合成碳水化合物,然后根据生理活动的需要合成核酸、蛋白质等,单个细胞中多糖的多少实际上取决于多糖与微囊藻细胞内蛋白质、核酸等物质的比例关系[39],Chla是各门藻类中都含有的光合作用色素,其浓度的升高表明藻类光合作用强烈,合成的蛋白质、核酸等物质增多,从而促使细胞产生更多的EPS.藻细胞密度与单位藻细胞EPS含量呈显著负相关,有研究[10]表明,单位藻细胞sEPS和bEPS含量受藻生长的影响,藻在生长不利的情况下单位藻细胞sEPS和bEPS含量较大,反之,单位藻细胞sEPS和bEPS含量较小,这是因为当生存状况恶劣时,蓝藻会分泌较多的多糖,以作为胁迫环境下的保护机制,而与此同时藻细胞密度会有所下降,因而导致二者呈负相关.

蓝藻EPS的分泌本质上是生物应对外界不利环境因素的一种反应,这种聚集可能是一种防止被捕食的策略[41]. 此外,当氮、磷营养盐等环境因素呈现不利状态时,会诱使蓝藻EPS分泌增加,供给藻际微生物以碳源,并通过藻际细菌或真菌等的矿化作用获得氮、磷营养盐[42-43],这种藻菌互利合作对藻类EPS的分泌需要进一步研究.

4 结论

a) 第1~7天,扰动对ρ(EPS)、ρ(sEPS)和ρ(bEPS)的影响不显著($P>0.05$);但是第10~19天,对照组的ρ(EPS)、ρ(sEPS)和ρ(bEPS)均显著低于间歇扰动组和持续扰动组($P<0.05$);第19天,持续扰动组的ρ(sEPS)和ρ(bEPS)显著高于间歇扰动组($P<0.05$),表明扰动尤其是持续扰动能在一定程度上促进EPS的分泌.

b) 水体中氮、磷和DO质量浓度及藻细胞密度较低时能够促进蓝藻EPS的分泌,反之,则会抑制蓝藻EPS的分泌.

c) 水体中ρ(Chla)和ρ(SS)较高时能够促进EPS的分泌,且理化因子对蓝藻EPS的形成起着非常重要的作用.

参考文献(References):

[1] PAERL H W. Controlling eutrophication along the freshwater-marine continuum: dual nutrient (N and P) reductions are essential[J].Estuaries and Coasts,2009,32(4):593-601.

[2] O'NEIL J M, DAVIS T W, BURFORD M A, *et al*. The rise of harmful cyanobacteria blooms: the potential roles of eutrophication and climate change[J].Harmful Algae,2012,14(1):313-334.

[3] LIU J,YANG W. Water sustainability for China and beyond[J]. Science,2012,337:649-650.

[4] PHILIPPIS R D,VINCENZINI M.Exocellular polysaccharides from cyanobacteria and their possible applications [J]. FEMS Microbiology Reviews,1998,22(3):151-175.

[5] OTERO A,VINCENZINI M.Extracellular polysaccharide synthesis by *Nostoc* strains as affected by N source and light intensity[J]. Journal of Biotechnology,2003,102(2):143-152.

[6] TSUNEDA S, AIKAWA H, HAYASHI H, *et al*. Extracellular polymeric substances responsible for bacterial adhesion onto solid surface[J].FEMS Microbiology Letters,2003,223(2):287-292.

[7] SHENG G,YU H,LI X.Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: a review[J].Biotechnology Advances,2010,28(6):882-894.

[8] PHILIPPIS R D, FARALONI C, SILI C, *et al*. Populations of exopolysaccharide-producing cyanobacteria and diatoms in the mucilaginous benthic aggregates of the Tyrrhenian Sea (Tuscan Archipelago) [J]. Science of the Total Environment, 2005, 353 (1/2/3):360-368.

[9] QIN B, YANG G, MA J, *et al*. Spatiotemporal changes of Cyanobacterial bloom in large shallow eutrophic Lake Taihu,China [J].Frontiers in Microbiology,2018,9:451.

[10] YANG Z,KONG F,SHI X,*et al*.Changes in the morphology and polysaccharide content of *Microcystis Aeruginosa* (Cyanobacteria) during flagellate grazing[J].Journal of Phycology,2008,44(3): 716-720.

[11] YIM J H, KIM S J, AHN S H, *et al*. Optimal conditions for the production of sulfated polysaccharide by marine microalga *Gyrodinium impudicum* strain KG03[J].Biomolecular Engineering, 2003,20(4/5/6):273-280.

[12] STAATS N,STAL L J,MUR L R.Exopolysaccharide production by the epipelic diatom *Cylindrotheca closterium*: effects of nutrient conditions [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology,2000,249(1):13-27.

[13] GRANUM E, MYKLESTAD S M. A simple combined method for determination of β-1, 3-glucan and cell wall polysaccharides in diatoms[J].Hydrobiologia,2002,477:155-161.

[14] 雷腊梅,宋立荣,欧丹云,等.营养条件对水华蓝藻铜绿微囊藻的胞外多糖产生的影响[J].中山大学学报,2007,46(3):84-87.
LEI Lamei, SONG Lirong, OU Danyun, *et al*. Effects of nutrient conditions on exopolysaccharide production in water-bloom forming cyanobacteria, *Microcystis aeruginosa* [J]. Acta Scientaiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni,2007,46(3):84-87.

[15] 晁建颖,高光,汤祥明,等.风浪扰动中太湖OA对水体磷循环影响的原位试验研究[J].环境科学,2011,32(10):2861-2867.
CHAO Jianying, GAO Guang, TANG Xiangming, *et al*. Effects of wind-induced wave on organic aggregates physical and chemical characteristics in a shallow eutrophic lake (Lake Taihu) in China [J].Environmental Science,2011,32(10):2861-2867.

[16] 韩丽华,杨桂军,刘玉,等.扰动强度对太湖水华微囊藻群体生长和叶绿素荧光的影响[J].环境科学研究,2018,31(2):265-272.
HAN Lihua, YANG Guijun, LIU Yu, *et al*. Effect of disturbance intensity on the growth and chlorophyll fluorescence of *Microcystis flos-aquae* colony in Lake Taihu[J]. Research of Environmental Sciences,2018,31(2):265-272.

[17] PRAIRIE J C, SUTHERLAND K R, NICKOLS K J, *et al*. Biophysical interactions in the plankton: a cross-scale review[J]. Limnology and Oceanography: Fluids and Environments, 2012, 2: 121-145.

[18] KQRP-BOSS L,BOSS E,JUMARS P A.Motion of dinoflagellates in a simple shear flow[J].Limnology and Oceanography,2000,45(7):1594-1602.

[19] 杨桂军,钟春妮,秦伯强,等.野外模拟扰动对太湖微囊藻群体大小的影响[J].湖泊科学,2017,29(2):363-368.
YANG Guijun,ZHONG Chunni,QIN Boqiang,*et al*.Effects of *in-situ* simulative mixing on colony size of *Microcystis* in Lake Taihu[J].Journal of Lake Sciences,2017,29(2):363-368.

[20] 芮政,杨桂军,刘玉,等.扰动方式对水华微囊藻(*Microcystis flos-aquae*)群体大小的影响[J].湖泊科学,2019,31(2):355-364.
RUI Zheng,YANG Guijun,LIU Yu,*et al*.Effects of disturbance modes on the size of *Microcystis flos-aquae* colonies[J].Journal of Lake Sciences,2019,31(2):355-364.

[21] JIN X,XU Q,HUANG C.Current status and future tendency of lake eutrophication in China[J].Science in China Series C:Life Sciences,2005,48(S1):948-954.

[22] 殷燕,张运林,时志强,等.太湖化学耗氧量和生化需氧量的时空分布特征[J].环境科学学报,2010,30(12):2544-2552.
YIN Yan,ZHANG Yunlin,SHI Zhiqiang,*et al*.Temporal spatial variations of chemical oxygen demand and biochemical oxygen demand in Lake Taihu[J].Acta Scientiae Circumstantiae,30(12):2544-2552.

[23] ZHANG Y,LIU X,YIN Y,*et al*.A simple optical model to estimate diffuse attenuation coefficient of photosynthetically active radiation in an extremely turbid lake from surface reflectance[J].Optics Express,2012,20(18):20482-20493.

[24] CAO H,KONG F,LUO L,*et al*.Effects of wind and wind-induced waves on vertical phytoplankton distribution and surface blooms of Microcystis aeruginosa in Lake Taihu[J].Journal of Freshwater Ecology,2006,21(2):231-238.

[25] WU T,QIN B,ZHU G,*et al*.Dynamics of cyanobacterial bloom formation during short-term hydrodynamic fluctuation in a large shallow,eutrophic,and wind-exposed Lake Taihu,China[J].Environmental Science and Pollution Research,2013,20(12):8546-8556.

[26] 金相灿,屠清瑛.湖泊富营养化调查规范[M].北京:中国环境科学出版社,1990:69-70.

[27] 李胜男,王秀娟,周建,等.利用流式细胞仪计数微型浮游生物的方法[J].湖泊科学,2015,27(5):757-766.
LI Shengnan,WANG Xiujuan,ZHOU Jian,*et al*.Application of flow cytometry to enumerate small plankton[J].Journal of Lake Sciences,2015,27(5):757-766.

[28] 孙梦家.不同营养条件对单细胞和群体微囊藻胞外多糖产率以及群体形成的影响[D].南京:南京大学,2014:19.

[29] 刘玉,杨桂军,韩丽华,等.扰动强度对太湖水华微囊藻群体大小的影响[J].生态环境学报,2017,26(11):1961-1968.
LIU Yu,YANG Guijun,HAN Lihua,*et al*.Effects of different disturbance on the colony size of *Microcystis flos-aquae* in Lake Taihu[J].Ecology and Environmental Sciences,2017,26(11):1961-1968.

[30] 陈长平,高亚辉,林鹏.盐度和 pH 对底栖硅藻胞外多聚物的影响[J].海洋学报,2006,28(5):123-129.
CHEN Changping,GAO Yahui,LIN Peng.Production of extracellular polymeric substances(EPS)by benthic diatom:effect of salinity and pH[J].Acta Oceanologica Sinica,2006,28(5):123-129.

[31] 浦寅芳,孙颖颖,严军威,等.不同环境因子对球等鞭金藻胞内和胞外多糖合成的影响[J].淮海工学院学报(自然科学版),2008,17(4):61-64.
PU Yinfang,SUN Yingying,YAN Junwei,*et al*.Effect of environmental factors on the intracellular and extracellular polysaccharide production of *Isochrysis galbana*[J].Journal of Huaihai Institute of Technology(Natural Science Edition),2008,17(4):61-64.

[32] PEREZ-MAYORGA D M,LADAH L B,ZERTUCHE-GONZALEZ J A,*et al*.Nitrogen uptake and growth by the opportunistic macroalga *Ulva lactuca*(Linnaeus)during the internal tide[J].Journal of Experimental Marine Biology and Ecology,2011,406(1/2):108-115.

[33] SMITH D J,UNDERWOOD G J C.Exopolymer production by intertidal epipelic diatoms[J].Limnology and Oceanography,1998,43(7):1578-1591.

[34] PEREIRA S,ZILLE A,MICHELETTI E,*et al*.Complexity of cyanobacterial exopolysaccharides:composition,structures,inducing factors and putative genes involved in their biosynthesis and assembly[J].FEMS Microbiology Reviews,2009,33(5):917-941.

[35] OTERO A,VINCENZINI M.*Nostoc*(Cyanophyceae)goes nude:extracellular polysaccharides serve as a sink for reducing power under unbalanced C/N metabolism[J].Journal of Phycology,2004,40:74-81.

[36] HUANG W J,LAI C H,CHENG Y L.Evaluation of extracellular products and mutagenicity in cyanobacteria cultures separated from a eutrophic reservoir[J].Science of the Total Environment,2007,377(2):214-223.

[37] PHILIPPIS R D,MARGHERI M C,PELOSI E,*et al*.Exopolysaccharide production by a unicellular cyanobacterium isolated from a hypersaline habitat[J].Journal of Applied Phycology,1993,5(4):387-394.

[38] GRANUM E,KIRKVOLD S,MYKLESTAD S M.Cellular and extracellular production of carbohydrates and amino acids by the marine diatom *Skeletonema costatum*:diel variations and effects of N depletion[J].Marine Ecology Progress Series,2002,242(1):83-94.

[39] 代晓炫,朱伟,李明.营养盐对微囊藻细胞组分及多糖组成的影响[J].湖泊科学,2013,25(2):277-282.
DAI Xiaoxuan,ZHU Wei,LI Ming.Effect of nutrients on components and polysaccharide content of Microcystis cells[J].Journal of Lake Sciences,2013,25(2):277-282.

[40] 尤珊,郑必胜,郭祀远.氮源对螺旋藻生长及胞外多糖的影响[J].食品科学,2004,25(4):32-35.
YOU Shan,ZHENG Bisheng,GUO Siyuan.Effect of nitrogen on accumulation of *Spirulina platensis* exopolysaccharide[J].Food Science,2004,25(4):32-35.

[41] PARKER D L,SCHRAM B R,PLUDE J L,*et al*.Effect of metal cations on the viscosity of a pectin-like capsular polysaccharide from the cyanobacterium *Microcystis flos-aquae* C3-40[J].Applied and Environmental Microbiology,1996,62(4):1208-1213.

[42] 翟春梅,刘常宏,吕路.铜绿微囊藻与藻际细菌 Ma-B1 菌株的相互作用[J].环境科学研究,2014,27(7):704-710.
ZHAI Chunmei,LIU Changhong,LV Lu.Interaction between Microcystis aeruginosa and bacterium Ma-B1 strain within phycosphere[J].Research of Environmental Sciences,2014,27(7):704-710.

[43] CROFT M T,WARREN M J,SMITH A G.Algae need their vitamins[J].Eukaryotic Cell,2006,5:1175-1183.

(责任编辑:张　蕊)