

武汉莲花湖微囊藻毒素含量变化特征及其影响因素的研究

郑利¹, 谢平¹, 林匡飞², 王松波¹, 杨华¹, 杨洪¹

(1. 中国科学院水生生物研究所, 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 湖泊生态系统东湖生态站, 湖北 武汉 430072; 2. 华东理工大学资源与环境学院, 上海 200237)

摘要: 采用现场采样及室内测试方法, 研究了武汉莲花湖水华消亡过程中微囊藻毒素和环境生态因子的变化规律, 并探讨了环境生态因子对微囊藻毒素产生的影响。结果表明, 莲花湖微囊藻毒素含量以 MC-LR 为主, 在水华消亡时大量释放到水体中, 且较高的藻毒素含量能持续数天。对环境因子的相关分析表明, 水体中的微囊藻毒素含量与铵氮、总磷显著正相关, 与氮磷比显著负相关 ($P < 0.05$)。根据多元逐步回归统计进一步分析, 筛选出相对重要的影响因子及合并共线性因子。经显著性检验, 逐步回归统计结果为 $MC = 13.62 + 5.77 \times NH_4^+ - 0.48 \times TN/TP$, 复相关系数为 0.93, 综合 F 值为 21.0, 说明铵氮和氮磷比是影响莲花湖水华消亡过程中微囊藻毒素含量的重要影响因子。

关键词: 微囊藻毒素; 影响因子; 武汉莲花湖

中图分类号: X131.2 文献标识码: A 文章编号: 1672 - 2043(2004)06 - 1053 - 05

Variation Characteristics of Microcystin Concentration and Influencing Factors in Lake Lianhuahu (Wuhan)

ZHENG Li¹, XIE Ping¹, LIN Kuang-fei², WANG Song-bo¹, YANG Hua¹, YANG Hong¹

(1. Donghu Experimental Station of Lake Ecosystem, State Key Laboratory for Freshwater Ecology and Biotechnology of China, Institute of Hydrobiology, CAS, Wuhan 430072, China; 2. College of Environment and Resource, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

Abstract: Microcystins (MC) produced by cyanobacteria resulted from cyanobacterial blooms caused by abundant nutrients and favorable conditions for cyanobacterial growth. Only a few papers on the relationships between MC concentrations and the N and P concentrations in natural waterbodies were reported. An indirect effect of total phosphorous (TP) on MC concentration through influencing cyanobacteria biomass or the size of MC-producing cyanobacteria was proposed. However, the information and field evidences were very limited and inadequate. Lake Lianhuahu (30°33'N, 114°16'E) is a small shallow lake with a gate connected to the Yangtze River in the subtropical Wuhan City, China, with the surface area about 0.02 km² and an average depth of 1.2m. It has been seriously eutrophicated due to sewage input, and has experienced toxic cyanobacteria bloom regularly in the warm season each year. The temporal dynamic of microcystin and environment conditions was described during the disappearance of the bloom, and the influence of environment conditions on MC level was discussed in the study. Based on our data, MC-LR was the main kind of MC and MC-RR presented only at the end of the bloom in Lake Lianhuahu. The data confirmed the remarkable release of MC at the end of cyanobacteria bloom, and high extra-MC lasted for several days in Lake Lianhuahu. Significant linear relationships ($P < 0.05$) were observed between nutrient conditions (Ammonia, TP and N/P ratio) and intra-MC. The stepwise multiple regression was used to determine the more important influencing factors on MC level, and the regression equation was: $MC = 13.62 + 5.77 \times NH_4^+ - 0.48 \times TN/TP$ ($R = 0.93$, $F = 21.0$), confirming that these nutrient elements were related to MC produce more than other factors in Lake Lianhuahu.

Keywords: microcystin; influencing factor; Lake Lianhuahu (Wuhan)

收稿日期: 2004 - 05 - 20

基金项目: 中国科学院知识创新重大项目(KZCX1-SW-12); 国家自然科学基金(30123004)

作者简介: 郑利(1975—), 男, 博士后, 主要从事化学生态学研究。E-mail: zhengli@ihb.ac.cn

富营养化水体中蓝藻水华的广泛暴发已成为世界性的公共环境问题,而且大多数水华能够产生七肽类微囊藻毒素(MC)。铜绿微囊藻是最常见的产毒种类,其它种类蓝藻,如鱼腥藻、绿色微囊藻、和颤藻等也能产生少量微囊藻毒素,目前已经确认的微囊藻毒素种类已达60余种^[1]。蓝藻水华死亡分解时能够释放大量毒素到水体中,引起野生动物及家畜中毒死亡,而且通过饮用水源的污染可能引起人类原发性肝癌的增加^[2]。

不同种类和不同时期的蓝藻水华毒性差异较大,由于产毒种和无毒种常常共同存在蓝藻水华中,藻类生物量与水华毒性不一定具有显著相关性^[3]。已有研究表明,藻类毒素含量可能受多种因素的影响,如理化因子(光照、营养盐、pH、温度)^[4]、光照和微生物的降解作用^[5]以及蓝藻的不同生长时期等^[6]。虽然已有不少研究关注于理化因子的影响,然而大多数研究是基于室内培养结果,野外数据较少,而且相对于水华暴发期,水华消亡过程中环境生态因子对微囊藻毒素产生及释放影响的研究较少。

本文主要研究了武汉莲花湖蓝藻水华消亡过程中微囊藻毒素的变化规律,并对影响微囊藻毒素含量的环境生态因子进行了分析和评价。

1 材料与方法

1.1 莲花湖的基本特征

莲花湖(北纬30°33',东经114°16')位于武汉市莲花湖公园,是一个典型的城市浅水湖泊。面积大约0.02 km²,平均水深1.2 m,有一个水闸通向长江。由于附近生活污水的输入,莲花湖已经严重富营养化,并且近年来夏秋季经常暴发蓝藻水华,持续至10月初结束。

1.2 样品处理及分析

在莲花湖3个采样点从2002年9月20日至10月26日每隔3 d采集表、底层混合水样,分析叶绿素a(Chl. a)、微囊藻毒素(MC)和各项理化指标。理化指标包括塞氏透明度(SD)、水温(WT)、pH值(Orion 210 pH计, pH)、溶解氧(Orion 810溶氧仪, DO)、铵氮(NH₄⁺)、硝酸盐氮(NO₃⁻)、亚硝酸盐氮(NO₂⁻)、总溶解性氮(TDN)、总氮(TN)、磷酸根(PO₄³⁺)、总溶解性磷(TDP)、总磷(TP)。分析方法均采用标准方法^[7]。

500 mL湖水经过GF/C滤膜(Whatman, UK)过滤后分为滤膜和滤液,滤膜上的藻类细胞用于测定胞内毒素(intra-MC),滤液用于测定胞外毒素(extra-

MC)含量。滤膜用30 mL分析纯甲醇提取,在25℃下200 r·min⁻¹振荡3 h,离心后分离上清液于4℃下避光保存,残渣再同样重复提取2遍,合并上清液用旋转蒸发仪蒸干(0.1 bar, 40℃),用色谱纯甲醇(Fisher, UK)定容后用反相高效液相色谱仪(HPLC)分析。湖水滤液用C18固相萃取柱(0.5 g·10 mL⁻¹,大连物化所)富集,萃取柱预先用10 mL甲醇和10 mL双蒸水调节,富集后萃取柱用6 mL甲醇洗脱,洗脱液用旋转蒸发仪蒸干,定容后用HPLC分析。

HPLC(岛津LC-10A,日本)配有ODS柱(Cosmosil 5C18-AR, 4.6 mm×150 mm, Nacalai, 日本)和紫外检测器(SPD10A),检测波长238 nm,流动相为65%甲醇和0.02%三氟乙酸,流速1 mL·min⁻¹,柱温25℃,标样为MC-LR和MC-RR(Wako Pure Chemical Industries, 日本)。统计分析采用STATISTICA 6.0软件进行数据分析。

2 结果

2.1 莲花湖理化指标背景和蓝藻水华变化特征

莲花湖调查期间理化指标如表1所示。从9月20日至10月10日蓝藻水华持续产生,主要是水华鱼腥藻(*A. flos-aquae*)和铜绿微囊藻(*M. aeruginosa*),10月14日左右发生降雨后,水华消失再未出现。叶绿素a含量和透明度变化(三点平均值)如图1所示。叶绿素a含量基本在100~200 μg·L⁻¹范围波动,在9月28日达到最大值263 μg·L⁻¹;透明度在水华发生期大约在25 cm左右,水华消失后显著上升达到40 cm左右。

2.2 微囊藻毒素变化特征

在整个调查期间,莲花湖水体中含有MC-LR和

表1 莲花湖水体理化指标

Table 1 Physical and chemical parameters in Lake Lianhuahu

理化指标	均值	SD	最小值	最大值
水温(℃)	22.6	3.3	16	29
pH值	7.9	0.7	6.9	9.3
溶氧/mg·L ⁻¹	10.3	4.1	5.4	20
透明度/cm	30.5	6.3	22	42
总氮/mg·L ⁻¹	5.56	0.7	4.26	6.92
总溶解性氮/mg·L ⁻¹	2.37	0.73	1.34	4.03
硝酸盐氮/mg·L ⁻¹	0.54	0.14	0.29	0.79
铵氮/mg·L ⁻¹	0.38	0.64	0.02	0.63
亚硝酸盐氮/mg·L ⁻¹	0.011	0.01	0.001	0.03
总磷/mg·L ⁻¹	0.23	0.07	0.14	0.43
总溶解性磷/mg·L ⁻¹	0.046	0.027	0.003	0.09
磷酸根/mg·L ⁻¹	0.02	0.015	0.008	0.057

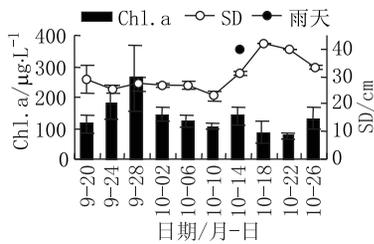


图 1 莲花湖叶绿素 a 和透明度变化特征

Figure 1 Changes of Chl. a and SD in Lake Lianhuahu

MC-RR 2 种微囊藻毒素, 而 MC-LR 是主要毒素种类。莲花湖微囊藻毒素胞内、胞外含量变化特征如图 2 所示, 在胞内和胞外均检测出 MC-LR, 而 MC-RR 仅在胞内检测出, 在胞外溶解态未检测出 (低于检测限 $0.02 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)。胞内藻毒素含量(三点平均值)在 10 月 14 日达到最大值为 $17 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 其他时间含量都低于 $5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在岸边的藻毒素含量相对较高, 最大胞内毒素含量达到 $33.2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (10 月 14 日)。胞外毒素含量在 9 月 20 日和 10 月 6 日—10 日含量较高, 持续较高值仅数天, 其它时间含量很低或未检测

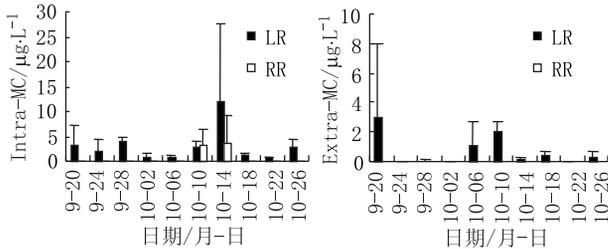


图 2 莲花湖微囊藻毒素胞内、胞外含量变化特征

Figure 2 Changes of intra-MC and extra-MC concentrations in Lake Lianhuahu

出。

2.3 环境因子对微囊藻毒素含量的影响

将微囊藻毒素含量与各项环境因子 (Chl. a、SD、WT、DO、pH、TN、TDN、NO₃、NH₄、NO₂、TP、TDP、PO₄、N/P) 进行线性相关分析, 如表 2 所示。总磷和氨氮与胞内毒素含量具有显著性正相关 ($P < 0.05$), 氮磷比与胞内毒素含量和总磷具有显著性负相关 ($P < 0.05$), 相关图如图 3 所示。在特定的水体中, 环境因子对藻毒素含量的影响作用各不相同, 多元逐步回归统计可以筛选出相对重要的影响因子, 合并共线性因子, 经显著性检验, 逐步回归统计结果为:

$$\text{MC} = 13.62 + 5.77 \times \text{NH}_4^+ - 0.48 \times \text{TN}/\text{TP}$$

复相关系数为 0.93, 综合 F 值为 21.0, 说明铵氮和氮磷比是影响莲花湖水华消亡过程中微囊藻毒素含量的重要影响因子。

主成分分析的样品和变量的分布如图 4 所示, 主成分分析中藻毒素含量和各环境因子的特征值见表 3。前 2 个主成分的累计贡献率达 56.6%, 第一主成分主要与透明度成正相关, 与 pH 值成负相关; 第二主成分主要与胞内藻毒素含量、铵氮和总磷成负相关, 与氮磷比成正相关。主成分分析表明样品可分为 3 个组, 第一组是 10 月 14 日降雨前, 第二组是 10 月 14 日降雨时, 第三组是 10 月 14 日降雨后。

3 讨论

莲花湖蓝藻水华持续发生至 10 月初, 10 月 14 日以后水华彻底消亡, 这可能是由于降雨和水温的降

表 2 莲花湖微囊藻毒素含量与环境因子的线性相关矩阵

Table 2 Correlation between MC concentration and environmental factors in Lake Lianhuahu

	MC	Chl. a	WT	SD	pH	DO	TN	TDN	NO ₃	NH ₄	NO ₂	TP	TDP	PO ₄	N/P
MC	1.00														
Chl. a	0.11	1.00													
WT	0.07	0.17	1.00												
SD	-0.13	-0.50	-0.39	1.00											
pH	0.09	0.29	0.80*	-0.76*	1.00										
DO	-0.17	0.26	0.72*	-0.48	0.88*	1.00									
TN	0.02	0.01	-0.05	-0.61	0.26	0.05	1.00								
TDN	-0.14	-0.24	-0.78*	0.71*	-0.73*	-0.47	-0.38	1.00							
NO ₃	0.08	0.06	-0.51	0.60	-0.51	-0.20	-0.41	0.85*	1.00						
NH ₄	0.83*	-0.15	-0.17	0.31	-0.26	-0.39	-0.14	0.23	0.40	1.00					
NO ₂	-0.09	0.04	0.06	-0.13	0.21	0.38	0.14	0.13	0.36	-0.11	1.00				
TP	0.74*	-0.03	0.18	-0.48	0.34	-0.01	0.59	-0.37	-0.25	0.50	0.04	1.00			
TDP	0.36	-0.15	0.18	-0.32	0.45	0.34	0.44	-0.03	0.08	0.23	0.44	0.73*	1.00		
PO ₄	-0.26	0.08	-0.06	-0.31	0.06	0.04	0.64*	-0.05	0.02	-0.23	0.65*	0.21	0.36	1.00	
N/P	-0.76*	-0.02	-0.23	0.43	-0.39	-0.07	-0.38	0.26	0.13	-0.49	-0.08	-0.95*	-0.80*	-0.09	1.00

注: * 为 $P < 0.05$ 显著相关 ($n = 10$)。

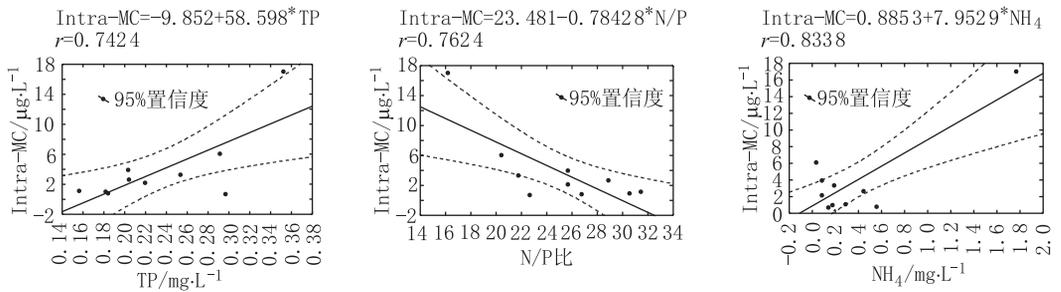


图3 胞内微囊藻毒素与总磷、氮磷比和氨氮相关图

Figure 3 Relationship between intra - MC and total phosphorus, N/P ratio and ammonia

表3 主成分分析中藻毒素含量和各环境因子的特征值和特征变量

Table 3 Cumulated variance and eigenvalues of MC and environmental factors for the first two components of PCA

	Intra - MC	Extra - MC	Chl. a	WT	SD	pH	DO	TN	TDN	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	NO ₂ ⁻	TP	TDP	PO ₄ ³⁻	N/P	比贡献率 /%
1	-0.26	-0.69	-0.19	-0.69	0.82*	-0.89*	-0.65	-0.57	0.78	0.59	0.14	-0.21	-0.67	-0.63	-0.26	0.65	35.14
2	-0.81*	0.07	0.20	0.34	-0.15	0.27	0.46	-0.15	-0.31	-0.38	-0.87*	-0.02	-0.71*	-0.53	-0.01	0.72*	56.63

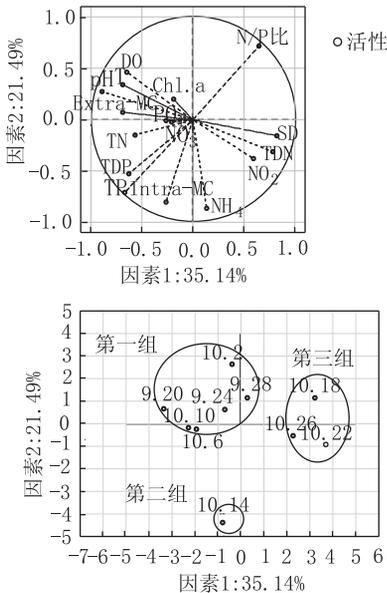
注: * 为 $P < 0.05$ 显著相关 ($N = 10$)

图4 主成分分析的变量和样品分布图

Figure 4 Variables and samples on the first two components of PCA

低,使蓝藻类生物不适宜大量生长,在菲律宾一个海湾,也有蓝藻水华在雨季开始前消亡的类似报道^[8]。与其他湖泊微囊藻毒素含量的报道类似^[9],莲花湖藻毒素含量范围也在 $1 \sim 4 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,然而在岸边藻毒素含量较高,最高达 $33.2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,这种空间分布差异可能是由于物理因素如风力使大量藻类细胞在岸边聚集,以及生物因素如不同生长条件的差异,使毒素含量远远高于湖区。

在10月10日—14日水华消亡的过渡期,检测到大量的微囊藻毒素释放到水体中,而且持续数天后迅

速降低。这可归因于:一方面,藻毒素往往在细胞死亡后大量释放出来,而在健康细胞中释放量很低^[10],Fromme^[11]也曾报道藻毒素在水华末期由于藻类细胞的死亡而大量释放;另一方面,藻毒素在自然水体中容易被光降解和生物降解,尤其以光降解的速率较快,一般认为微囊藻毒素在藻类死亡大量释放后可在自然水体中持续数天到数周^[12],而浅水湖泊中藻毒素的光降解比深水湖泊更快^[13],以及湖水的稀释作用,可能是莲花湖胞外毒素含量在数天内快速降低的原因。

在莲花湖整个观测期内,只检测到溶解态 MC - LR,而未检测出 MC - RR, Poon^[14]也曾报道过类似的现象,这是否由于 MC - RR 在自然水体中比 MC - LR 更易降解,尚有待于进一步研究。

有很多报道认为藻毒素的含量与种类受一些环境因素的影响,如光照、温度、pH 值和营养盐^[15,16]。一般认为,在一些蓝藻生长的适宜条件下,如有较低的透明度、较低的水体扰动以及较高的水温,往往意味着较高毒素的产生^[17]。然而莲花湖中微囊藻毒素与环境因子的相关分析表明,未发现透明度和水温与毒素含量有显著相关,而且藻毒素最大含量时(10月14日),由于降雨使水体扰动较大。分析结果表明,总磷和氨氮与藻毒素含量具有显著性正相关,氮磷比与藻毒素含量具有显著性负相关 ($P < 0.05$),逐步回归分析也说明这些因子对毒素产生较其它因子具有更大的影响作用。Chorus^[18]和 Kotak^[19]都曾基于野外数据发现总磷含量的增加伴随着藻毒素含量的增加,与我

们的结果一致,因此总磷含量和氮磷比可能是影响莲花湖藻毒素产生的关键因子。关于氨氮和藻毒素产生的报道很少,最近 Maria 报道水华暴发期藻毒素的产量(单位藻细胞干重中毒素含量)与氨氮含量呈负相关,这与我们的结果相反,可能与水华研究的不同时期有关,有待于进一步研究。

4 结论

本文研究表明,莲花湖微囊藻毒素以 MC-LR 为主,含量一般在 $1 \sim 4 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,在岸边藻毒素含量较高,最高达 $33.2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,在水华消亡时大量释放到水体中,且较高含量能持续数天。对环境因子的相关分析表明,水体中的微囊藻毒素的含量与铵氮、总磷呈显著正相关,与氮磷比显著负相关。根据多元逐步回归统计进一步分析,筛选出相对重要的影响因子及合并共线形因子,经显著性检验,逐步回归统计结果为 $\text{MC} = 13.62 + 5.77 \times \text{NH}_4^+ - 0.48 \times \text{TN}/\text{TP}$,复相关系数为 0.93,综合 F 值为 21.0,说明铵氮和氮磷比是影响莲花湖水华消亡过程中微囊藻毒素含量的重要影响因子。

参考文献:

- [1] Haider S, Naithani V, Viswanathan P N, et al. Cyanobacterial toxins: a growing environmental concern[J]. *Chemosphere*, 2003, 52: 1 - 21.
- [2] Carmichael W W. Toxic microcystis and the environment[A]. In: Watanabe M F, Harada K, Carmichael W W, Fujiki H. Toxic microcystis [C]. Boca Raton, FL: CRC Press, 1996. 1 - 11.
- [3] Jacoby J M, Collier D C, et al. Environmental factors associated with a toxic bloom of *Microcystis aeruginosa*[J]. *Can J Fish Aquat Sci*, 2000, 57: 231 - 240.
- [4] Orr P T J and Jones G J. Relationship between microcystin production and cell division rates in nitrogen - limited *Microcystis aeruginosa* cultures[J]. *Limnol Oceanogr*, 1998, 43: 1604 - 1614.
- [5] Chiswell R K, Shaw G R, et al. Stability of cylindrospermopsin, the toxin from the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*: Effect of pH, temperature and sunlight on decomposition[J]. *Environ Toxicol*, 1999, 14: 155 - 161.
- [6] DeBernadi R, Giussani G. Are blue - green algae a suitable food for zooplankton? An overview[J]. *Hydrobiologia*, 1990, 200/201: 29 - 41.
- [7] 谢贤群, 王立军. 水环境要素观测与分析[M]. 北京: 中国标准出版社, 1998.
- [8] Baldia S F, Conaco M C G, et al. Microcystins production during algal bloom occurrence in Laguna de Bay, the Philippines[J]. *Fisheries Science*, 2003, 69: 110 - 116.
- [9] Jacoby J M, Gibbons H L, et al. Wintertime blue - green algal toxicity in a mesotrophic lake[J]. *Freshwat Ecol*, 1994, 9: 241 - 251.
- [10] Sivonen K, Jones G. Cyanobacterial toxins[A]. In: Chorus I, Bartram J, editors. Toxic cyanobacteria in water—a guide to their public health consequences, monitoring and management[C]. London: E&FN Spon, 1999. 41 - 111.
- [11] Fromme H, Kohler A, et al. Occurrence of cyanobacterial toxins—microcystins and anatoxin - a—in Berlin water bodies with implication to human health and regulations[J]. *Environ Toxicol*, 2000, 15: 120 - 130.
- [12] Tsuji, K, Naito S, et al. A clean - up method for analysis of trace amounts of microcystins in lake water[J]. *Toxicol*, 1994, 32: 1251 - 1259.
- [13] Martin W, Christian S. indirect photolysis of cyanotoxins: one possible mechanism for their low persistence[J]. *Water Res*, 1999, 33(5): 1159 - 1164.
- [14] Poon K F, Lam M H, et al. Determination of microcystins in cyanobacterial blooms by solid - phase microextraction - high - performance liquid chromatography[J]. *Environ Toxicol Chem*, 2001, 20(8): 1648 - 55.
- [15] Watanabe M F, Harada K I, et al. Heptapeptide toxin production during the culture of two microcystis species (*Cyanobacteria*)[J]. *J Appl Phycol*, 1989, 1, 161 - 5.
- [16] Codd G A. Cyanobacterial toxins: occurrence, properties and biological significance[J]. *Water Res*, 1995, 32: 149 - 56.
- [17] Johnston B and Jean M J. Cyanobacterial toxicity and migration in a mesotrophic lake in western Washington, USA[J]. *Hydrobiologia*, 2003, 495: 79 - 91.
- [18] Chorus I. Cyanotoxins—occurrence, causes, consequences. Berlin: Springer, 2001.
- [19] Kotak B G, Lam A K Y, et al. Role of Chemical and physical variables in regulating microcystin - LR concentrations in phytoplankton of eutrophic lakes[J]. *Can J Fish Aquat Sci*, 2000, 57: 1584 - 1593.