



项目批准号	50938007
申请代码	E0804
归口管理部门	
收件日期	



国家自然科学基金 资助项目结题报告

资助类别: 重点项目

亚类说明:

附注说明:

项目名称: 湖库型水源地蓝藻水华及其有害次生产物暴发机制

负责人: 杨敏 电话: 010-62923475

电子邮件: yangmin@rcees.ac.cn

依托单位: 中国科学院生态环境研究中心

联系人: 罗莎 电话: 01062923597/62849178

资助金额: 200 (万元) 累计拨款: 200.0 (万元)

执行年限: 2010.01-2013.12

填表日期: 2014年02月12日

国家自然科学基金委员会制 (2012年)

项目摘要

中文摘要(500字以内):

近年来，我国重要湖库水源的蓝藻水华现象日趋严重，由此产生的有害藻类代谢物质（嗅味物质、藻毒素等）严重威胁饮用水安全。本项目选择我国北方营养程度有显著差异的湖库型水源地（密云水库和洋河水库）为研究对象，围绕蓝藻水华及有害次生产物的暴发，通过原位观测和微宇宙模拟实验，系统研究蓝藻水华对营养状态和水力条件的响应机制，以及嗅味物质和藻毒素产生的物理、化学及生物学机制，综合应用生态水力学、环境化学和分子生物学方法，建立环境因子与藻类种群及其次生产物变化之间的定性与定量模式，构建藻类生态动力学模型，对水库蓝藻水华暴发及有害次生产物的产生行为进行预测，为湖库型水源地管理及水质安全保障提供科学基础。

关键词(不超过5个，用分号分开): 蓝藻水华； 生态动力学模型； 嗅味物质； 藻毒素；

Abstract (limited to 1500 characters):

In recent years, cyanobacterial blooming in lakes and reservoirs is becoming more and more frequent, which has caused serious concerns regarding the drinking water safety posed by harmful algal metabolites such as odor and toxin substances. In this project, two source water reservoirs in north China (Miyun Reservoir and Yanghe Reservoir), which are in different nutrition states, were selected as the research targets, and the responding mechanisms of algae to nutrition and hydraulic conditions, as well as the physical, chemical and biological mechanisms for the production of odor-causing compounds and algal toxins were systematically studied by combining the on-site observation approaches with microcosm simulation methods. By comprehensively using the methodologies of applied ecology, hydraulics, environmental chemistry and molecular biology, this project will try to elucidate the impacts of different environmental factors on the algal population dynamics and harmful algal metabolites both qualitatively and quantitatively, and establish algal ecological dynamics models. The purpose of the study is to predict the occurrence of algal blooms and the production behavior of harmful algal metabolites, and provide a scientific basis for lake and reservoir-type water source management.

Keywords (limited to 5 keywords, separated by ;): Algal bloom; Eco-dynamic model; Odor-causing substances; Algal toxins;

结题摘要

中文摘要(对项目的完成情况及取得成果做简单概述, 1000字以内):

针对饮用水水库由于藻类暴发而产生异味问题, 本项目选择营养状态、水深差异较大的两个北方水库(密云水库和洋河水库)为主要研究对象, 综合采用长期的现场采样监测、实验室模拟实验以及模型模拟研究等各种手段, 比较系统地研究了不同水动力学以及营养条件下藻类的群落变化规律, 重点针对产二甲基异莰醇的底栖藻的生长规律及其影响因子进行了比较深入的探索, 取得如下成果:

开发出基于q-PCR的藻类产嗅(土臭素)潜力快速测试方法、底栖藻类采样方法、全自动气象站系统、藻类半自动计数方法等, 形成一套先进的水库环境研究方法学体系。在对湖库藻类形态季节变化规律进行深入分析的基础上, 提出了太阳高度角是藻类形态发生演替的主要驱动因子这一假说, 并以细胞投影面积和细胞扁平率两个可描述藻细胞形态及其接受光能特性关键参数, 构建了可定量表达光驱动下藻类细胞形态演替的简洁模型, 并利用洋河水库全年调查数据对模型成功进行了验证, 证明富营养水库中光照对藻类形态演替具有显著影响, 较好地解释了在春冬季, 水库中主要以细胞投影面积和扁平率均较大的藻种为主、而在夏季以投影面积和扁平率均较小的藻细胞占有绝对优势的藻类细胞形态分布规律。对密云水库的水质和藻类种群进行了长达4年的系统调查, 克服了深水湖库中底栖藻研究的困难, 发现产二甲基异莰醇底栖藻(颤藻)是导致密云水库在每年9-10月产生嗅味的主要原因, 揭示了适合产嗅藻的主要生态位(光线充分的浅水区)以及底栖藻(颤藻)与微囊藻竞争生长的机制。

相关研究丰富和完善了湖库水环境研究方法学, 推动了藻类生态学的理论发展, 并初步阐明了产二甲基异莰醇底栖藻的生长行为与影响因子, 为湖库水质管理提供了有力的科学支持。

本项目执行过程中, 发表论文26篇, 其中SCI收录16篇, EI收录10篇, 培养博士生3名、硕士生7名, 并与澳大利亚、挪威相关研究机构建立了密切的合作关系。

关键词(不超过5个, 用分号分开): 藻类; 嗅味物质; 演替; 颤藻; 定量PCR

Abstract (limited to 3000 characters):

Two reservoirs (Miyun and Yanghe) was selected as study objection, of which eutrophic and depth are different. The field monitoring, labor and model simulating was carried for long term to explore the pattern of algae communities evolution under the different hydrodynamic and eutrophic status, especially on the benthic algae growth law and affected factors, which can produce the 2-MIB. The accomplishment was follows:

A serials methods was developed such as quick assessment method of producing 2-MIB based on 2-MIB, benthic algae sampling mehod, auto-meteorology station, algae semiautomatic count system, continuous sampling on reservoir surface, and trace phosphorus test, which provided systemic methods for reservoir study. A hypothesis was developed that the algae communities morphology evolution was controlled by solar elevation angle using two key parameters (cell projection area and flat rate) to



describe the absorbing light potential of algae cell, which was verified by the long term monitoring data of algae in Yanghe reservoir. The hypothesis explain the algae with greater cell projection area and flat rate play domain role in Autumn and Winter, smaller in Spring and Summer. A long term of 4 year monitoring of water quality and algae communities in Miyun reservoir reveal that the oscillatoria algae is the producer of 2-MIB in Sept and Oct, which grow well in lightful shallow and completing mechanism growth with microcystis. The study developed a serials method to promote the reservoir environment study, provided and verified the algae morphology evolution controlled by light, explain the behavior and niche (lightful shallow) of oscillatoria algae, which provide a power tool for the reservoir management.

Keywords (limited to 5 keywords, separated by;): Algae; Odorous compounds; evolution; Oscillatoria sp. ; quantitative PCR



报告正文

一 研究计划要点及执行情况概述

研究计划要点：本项目选择我国北方营养程度有显著差异的湖库型水源地（密云水库和洋河水库）为研究对象，建立仪器和分子生物学检测方法，完成野外原位和离线监测，单因子和多因子微宇宙模拟实验，系统研究蓝藻水华对营养状态和水力条件的响应机制，完成环境因子与藻类种群及其次生产物变化之间的定性与定量模式的建立，构建藻类生态动力学模型,可用于水库蓝藻管理。

按计划完成了各项任务。

二 研究工作的主要进展和取得的成果

第一章 藻类及嗅味产物潜力评估方法学建立

1.1 藻类及嗅味产物潜力评估的分子生物学分析方法建立

分子生物学(molecular biology)为近代发展起来的在分子水平上研究的生物学，并在生物学各个领域发挥了极其重要的作用。本研究中利用实时荧光定量 PCR(real-time quantitative polymerase chain reaction)对水体中藻类生物量以及嗅味物质浓度定量，相对于传统方法具有快速、简单等优点。藻细胞由于具有坚实的细胞壁，提取 DNA 难度比其他生物细胞要大很多。在本研究中，选择使用特定 DNA 提取试剂盒，并调整优化了方法，提高了提取效率和产物的纯度。

用聚碳酸酯膜(Millipore, 英国, GTTP)过滤一定体积(200 mL–1 L)水样，图 1.9GSG 定量 PCR 方法与 GC-MS 方法测定胞外 geosmin 浓度的对比-80°C 冷冻保存至 15 mL 离心管中。用超声破碎仪将 15 mL 离心管中的滤膜间隔超声 60 秒，用以破碎细胞壁，这一步在藻细胞 DNA 提取中具有至关重要的作用。接着利用 DNA 提取试剂盒(DNeasy Kit 69504, Qiagen, Australia)参照试剂盒操作步骤提取藻细胞 DNA，但在样品溶解中添加了 $10 \mu\text{L} 90 \text{ mg mL}^{-1}$ 的 Lysosyme 溶液(flesh, 保存时间不超过一周)，此步比较关键，需要保证样品溶解得非常好，如果仍旧难以溶解则通过震荡的办法，或者用专门的搅拌棒搅拌样品，直至混匀为止。

1.1.1 鱼腥藻及其致嗅产物定量 PCR 方法实现

湖库中蓝藻爆发已公认为对水生生态系统、人类健康以及各种人类活动具有负面影响^[11]。而部分蓝藻爆发中其产生的致嗅代谢产物会进一步导致水体中出现嗅味问题，比如 geosmin 和 MIB^[12]。鱼腥藻(*Anabaena* sp.)是一种湖库中经常爆发的藻类，并且 46% 的 geosmin 被认为是由鱼腥藻产生^{[13]-[16]}。2007 年，在中国秦皇岛市洋河水库发生了非常严重的鱼腥藻爆发，而鱼腥藻产生的 geosmin 浓度非常高，导致了一场严重的水危机事件^[17]。蓝藻往往能在很短的时间内进行对数生长并快速形成大面积的水华，而且 geosmin 的可挥发性以及生物可降解性需要一种快速的监测藻类及其有害代谢产物的方法^[11]。显微镜计数是湖库中监测藻类生物量最主要的方法^[18]，但该方法非常耗时耗力^[19]，同时也需要非常丰富的藻类分类和鉴定经验^[20]；另一方面，嗅味物质的检测需要使用气相色谱-质谱等高端分析仪器，因而目前还无法实现快速野外监测，甚至大部分的水库水质管理中心也不具备检测条件，因此建立一套简便、快速的监测方法极有必要。

定量 PCR 方法一种可靠的、智能的以及快速的分子生物学方法^[21, 22]，并可以应用到蓝藻爆发

中藻类生物量监测和调查中。与 16S rRNA 基因相比, *rpoC₁* 基因能够在属甚至种的水平区分蓝藻藻种^[23-26], 并且该基因已经用于用定量 PCR 方法监测水库中 *Cylindrospermopsis raciborskii*^[27]。另外, 近几年 geosmin 合成基因的发现, 为寻找 geosmin 产量与 geosmin 合成基因之间的关系提供了非常重要的信息^[28-33]。因此, *rpoC₁* 基因和 geosmin 合成基因可能是利用定量 PCR 方法检测水中鱼腥藻生物量以及 geosmin 浓度的最佳候选基因。

在本研究中, 根据鱼腥藻的 *rpoC₁* 基因和 geosmin 合成基因分别设计了两对引物, 并分别通过检测 47 和 11 株蓝藻确认了两对引物的特异性。另外, 通过设计一个为期 72 天的实验室培养模拟鱼腥藻爆发实验, 以及 63 个野外样品, 利用基于鱼腥藻 *rpoC₁* 基因和 geosmin 合成基因的定量 PCR 方法分别检测鱼腥藻生物量与 geosmin 浓度, 并分别与传统方法相比较, 发现两个定量 PCR 方法均能准确、快速地测定水体中的藻细胞量与 geosmin 浓度。

1.1.2 材料与方法

来自澳大利亚水质中心(Australian Water Quality Centre, AWQC)、中国淡水藻种库以及中国环境科学研究院, 共 30 株鱼腥藻、15 株微囊藻以及两株柱胞藻(*Cylindrospermopsis*)用于检验鱼腥藻 *rpoC₁* 基因(ARG)引物的特异性, (表 1.1), 另外, 表 1.2 中共 11 株鱼腥藻用于 geosmin 合成基因(GSG)引物特异性的检验。在实验室模拟试验中, 采用卷曲鱼腥藻(*Anabaena circinalis*, AWQC-ANA318)培养模拟了鱼腥藻爆发, 而所有的野外环境样品中通过添加螺旋鱼腥藻(*Anabaena spiroides*, FADC-0001)来验证方法的有效性。卷曲鱼腥藻 AWQC-ANA318 用 ASM-1 培养基, 在 24 小时持续光照以及 25°C 条件下培养 72 天, 并每隔 2-8 天采样。样品在显微镜下藻细胞计数, 以及用 GC-MS 分析方法测定 geosmin 的浓度, 同时, 提取样品的 DNA 用于定量 PCR 方法。螺旋鱼腥藻 FADC-0001 最初在持续光照条件下培养一周后添加至来自 5 个市内湖泊以及 2 条河流中的野外样品中, 并进行定量 PCR 分析。

为了评估环境样品中其他生物体和悬浮颗粒物对 ARG 和 GSG 定量 PCR 的影响, 在北京市五个市内小型湖泊(未名湖(WML), 森林公园(FP), 圆明园(YYT), 后海(HH)和莲花池(LP))以及两条河流(温榆河(WYR)与清河(QR))采集表层水样, 采样点如图 1.1 所示。总共在 7 个采样点表层 0.5 m 水深处采集了 63 个水样(7 采样点 × 3 添加浓度水平 × 3 平行样品), 所有 63 个环境样品在提取 DNA 之前均添加了 3 种不同浓度的螺旋鱼腥藻(10^6 - 10^8 cells L⁻¹)。与 32 个实验室模拟样品一起, 所有样品均进行显微镜计数, geosmin 的分析测定以及 DNA 提取和定量 PCR。藻类鉴定和计数方法参见 § 1.3 “藻类检测方法优化”, 藻细胞 DNA 提取方法参见 § 1.3.3.1 “藻类 DNA 提取方法改



进”。



图 1.1 北京市内 7 个采样点位置

基于鱼腥藻 *rpoC₁* 基因以及 geosmin 合成基因设计了两对用于定量检测鱼腥藻生物量和 geosmin 含量的特异性引物，其序列信息为：ARG 正向引物 AN03 (5' -TGT GGC TCA TGT TTG GTA TCT C-3') 与向引物 AN06 (5' -CCA ATA CCC ACT TCC ACA CC-3'); GSG 引物 173AF (5' -TGT GAG TAC CCA AGA GG-3') 与 173AR (5' -CTG CCA ATC CTG AAG TCC TTT-3')^[34]。如表 1.1 所示，通过普通 PCR 并结合凝胶电泳方法用 30 株鱼腥藻、15 株微囊藻以及两株柱胞藻的 DNA 验证了 ARG 引物的特异性。同时，在 11 株鱼腥藻检验了 GSG 引物的特异性；并且，利用熔解曲线分析方法验证了 4 株 AWQC 鱼腥藻的熔解温度。

每个样品的 4 个平行分别在 Rotor-Gene Q 定量 PCR 仪上进行两对引物的定量 PCR 分析。具体的方法条件为：25 μL 体系中包含 1.5 mM MgCl₂ (Invitrogen, USA), 1× PCR buffer (Invitrogen, USA), 0.2 mM dNTPs (Invitrogen, USA), 0.2 μM 引物(ARG: AN03/06, GSG: 173AF/AR), 1 U Taq 酶 (Invitrogen, USA)。扩增条件为：初始变性温度 95°C 5 分钟，紧接着 45 个扩增循环包含 95°C 30 秒，52°C 30 秒以及 72°C 30 秒，最后的延伸步骤结合熔解曲线分析(75°C–95°C)。

1.1.3 引物的有效性检验

通过普通 PCR 方法扩增了 30 株鱼腥藻以及 17 株微囊藻和柱胞藻的 DNA，并结合凝胶电泳方法确认了所有 PCR 产物的长度。除了 5 株鱼腥藻(FACHB-190, FACHB-319, FACHB-1199, AWQC-ANA283, AWQC-ANA357)分别属于 *A. azollae*, *A. variabilis*, *A. eucompacta* 和 *A. bergii*)以外，



所有其他鱼腥藻样品均在 200 bp 位置显示阳性单条带，如图 1.2 所示，而微囊藻和柱胞藻样品均显示阴性结果(表 1.1)。结果表明，ARG 引物可以扩增大部分的鱼腥藻，并且包含了 3 个最常见的水华藻种 *A. circinalis* (strain AWQC-ANA318), *A. spirodes* (strain FADC-0001) 以及 *A.flos-aquae*。

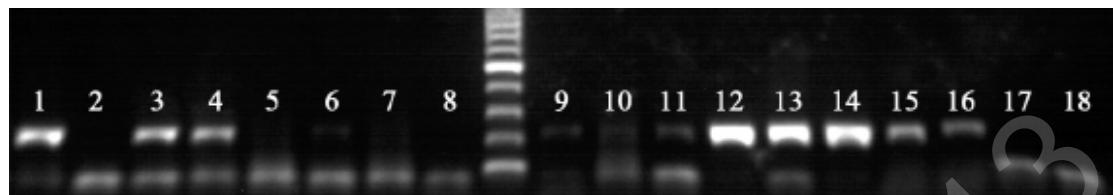


图 1.2ARG 引物普通 PCR 产物的凝胶电泳结果



表 1.1 鱼腥藻 rpoC1 PCR 引物(AN03/06)的特异性

Strain	Genus/species	Sig. ^a	Source
FACHB-170	Anabaena cylindrica	++ ^b	FACHB
FACHB-190	Anabaena azollae	- ^c	FACHB
FACHB-245	Anabaena flos-aquae	++	FACHB
FACHB-251	Anabaena sphaerica	+	FACHB
FACHB-319	Anabaena variabilis	-	FACHB
FACHB-362	Anabaena catenata	+*	FACHB
FACHB-380	Anabaena inaequalis	+*	FACHB
FACHB-1096	Cylindrospermopsis sp.	-	FACHB
FACHB-1194	Anabaena compacta	+*	FACHB
FACHB-1199	Anabaena compacta	-	FACHB
FACHB-1219	Anabaena sp.	+*	FACHB
FACHB-1239	Anabaena sp.	++	FACHB
FACHB-1250	Anabaena sp.	++	FACHB
FACHB-1255	Anabaena flos-aquae	++	FACHB
FACHB-1263	Anabaena flos-aquae	++	FACHB
FADC-0001	Anabaena spiralis	+	CRAES
FADC-0002	Microcystis sp.	-	CRAES
AWQC-ANA318	Anabaena circinalis	+	AWQC
AWQC-ANA001	Anabaena cylindrica	+	AWQC
AWQC-ANA019	Anabaena circinalis	+	AWQC
AWQC-ANA025	Anabaena oscillarioides	+	AWQC
AWQC-ANA044	Anabaena spiralis	+	AWQC
AWQC-ANA048	Anabaena affinis	+	AWQC
AWQC-ANA049	Anabaena circinalis	+	AWQC
AWQC-ANA051	Anabaena flos-aquae	+	AWQC
AWQC-ANA056	Anabaena spiralis	+	AWQC
AWQC-ANA059	Anabaena circinalis	+	AWQC
AWQC-ANA217	Anabaena aphantomenoides	+	AWQC
AWQC-ANA249	Anabaena inaequalis	+	AWQC
AWQC-ANA283	Anabaena bergeri	-	AWQC
AWQC-ANA357	Anabaena azollae	-	AWQC
AWQC-ANA374	Anabaena planktonica	+	AWQC
AWQC-MIC005	Microcystis aeruginosa	-	AWQC
AWQC-MIC013	Microcystis aeruginosa	-	AWQC
AWQC-MIC017	Microcystis aeruginosa	-	AWQC
AWQC-MIC029	Microcystis aeruginosa	-	AWQC
AWQC-MIC034	Microcystis aeruginosa	-	AWQC
AWQC-MIC040	Microcystis aeruginosa	-	AWQC
AWQC-MIC049	Microcystis aeruginosa	-	AWQC
AWQC-MIC311	Microcystis aeruginosa	-	AWQC
AWQC-MIC320	Microcystis aeruginosa	-	AWQC
AWQC-MIC051	Microcystis flos-aquae	-	AWQC
AWQC-MIC053	Microcystis flos-aquae	-	AWQC
AWQC-MIC054	Microcystis flos-aquae	-	AWQC
AWQC-MIC055E	Microcystis flos-aquae	-	AWQC
AWQC-MIC058	Microcystis flos-aquae	-	AWQC
AWQC-CYL001	Cylindrospermopsis raciborskii	-	AWQC

^a The gel results of amplifications by traditional PCR with ARG primers;

^b +, positive result; +*, the gel showed weak signal; ++, gel showed strong signal; ^c The ARG primers didn't amplify the DNA.



如表 1.2 所示, 11 株鱼腥藻中, 有 6 株可以产 geosmin, 测得的浓度范围为 $1.97\text{--}8270 \text{ ng L}^{-1}$, 而另外 5 株不产 geosmin ($< 1.0 \text{ ng L}^{-1}$), 凝胶电泳照片如图 1.3 所示。此外, 溶解曲线分析结果了鱼腥藻与念珠藻(*Nostoc* sp.)明显不同的熔解温度(T_m), 而鱼腥藻之间具有相同的溶解温度, 但曲线形状不同, 因此可以利用熔解曲线分析来区分鱼腥藻中种的差别。



图 1.3 GSG 引物普通 PCR 产物的凝胶电泳结果

表 1.2 Geosmin PCR 引物(173AF/AR)的特异性

Strain	Genus/species	Sig. ^a	Geosmin ^b (ng L ⁻¹)
AWQC-ANA044	<i>Anabaena spiroides</i>	+	1.97
AWQC-ANA102	<i>Anabaena flos-aquae</i>	+	4.05
AWQC-ANA196	<i>Anabaena circinalis</i>	+	472.16
AWQC-ANA328	<i>Anabaena circinalis</i>	+	204.36
FACHB-1199	<i>Anabaena eucompacta</i>	-	<LOD ^c
FACHB-1219	<i>Anabaena</i> sp.	-	<LOD
FACHB-1239	<i>Anabaena</i> sp.	+	8270
FACHB-1250	<i>Anabaena</i> sp.	-	<LOD
FACHB-1255	<i>Anabaena</i> sp.	-	<LOD
FACHB-1263	<i>Anabaena flos-aquae</i>	-	<LOD
FADC-0001	<i>Anabaena spiroides</i>	+	305.1
Positive control	<i>Nostoc</i> sp.	+	+ ^d
Negative control	Milli-Q water	-	0.09 ^e

^a Conventional PCR used GSG primers 173AF/AR; the melting temperature (T_m) corresponding to the target amplicon is 83 °C for *Anabaena* species and 86°C for *Nostoc* species; ^b The concentration of geosmin produced by the strains was measured by GC-MS; ^c The geosmin concentration determined by GC-MS method is under the limit of detection (LOD); ^d The positive control has been previously controlled for the production of geosmin and was found positive with a different melting temperature of 86°C;

^e There was residual geosmin in the water serving for analysis (0.09 ng L⁻¹), thus for the strains for which the level of geosmin detected were around 1 ng L⁻¹ is not possible to confirm true positive from negative.

1.1.4 ARG 和 GSG 定量 PCR 方法的检测限和定量限

通过测试一系列 AWQC-ANA318 DNA 样品，确定了两个定量 PCR 方法的检测限与定量限，如表 1.3 所示。结果表明，ARG 和 GSG 两个定量 PCR 方法的检测限均为 0.02 pg DNA 水平，约 4 个基因拷贝数，而定量限均为 0.2 pg DNA 水平，约 40 个基因拷贝数。



表 1.3 ARG 与 GSG 定量 PCR 的检测限(LOD)和定量限(LOQ)

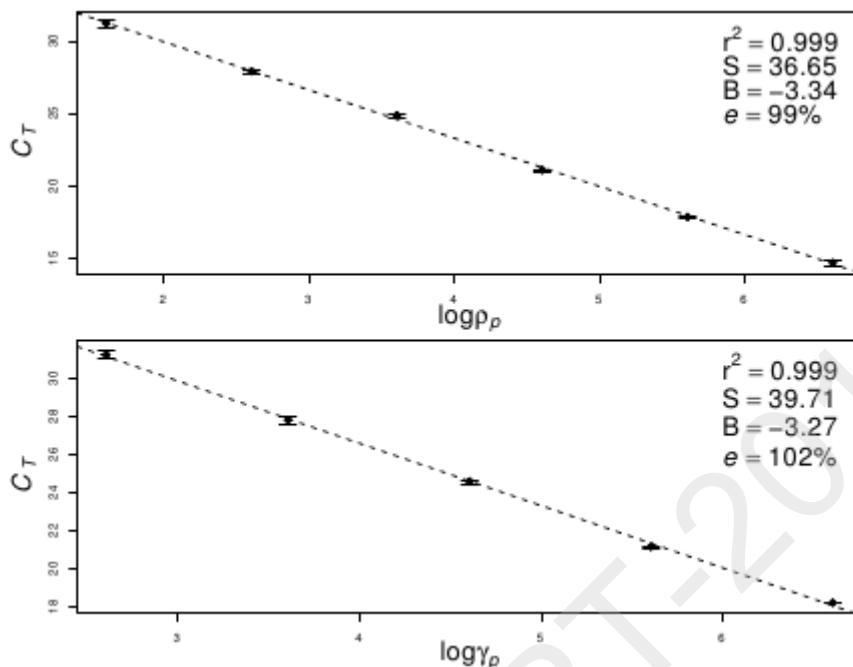
	DNA quantity target ^a (pg)	C _T target ^b	DNA quantity target qPCR ^{c,h} (拷贝数)	CV (%)	% 阳性	< LOD? ^d	< LOQ? ^e
<i>ARG</i> assay ^f	2.00E-02	34.7 ± 0.63	4.34E+00 ± 1.82	42%	94%	No	Yes
	2.00E-01	31.4 ± 0.32	3.95E+01 ± 0.99	25%	100%	No	No
	2.00E+00	28.0 ± 0.18	3.80E+02 ± 0.51	13%	100%	No	No
	2.00E+01	24.4 ± 0.1	4.65E+03 ± 0.31	7%	100%	No	No
	2.00E+02	21.6 ± 0.15	3.28E+04 ± 0.36	11%	100%	No	No
	2.00E+03	18.0 ± 0.14	3.93E+05 ± 0.38	10%	100%	No	No
	2.00E+04	15.0 ± 0.09	3.15E+06 ± 0.19	6%	100%	No	No
<i>GSG</i> assay ^g	2.00E-02	37.7 ± 0.37	4.35E+00 ± 1.20	28%	96%	No	Yes
	2.00E-01	34.6 ± 0.22	3.79E+01 ± 0.66	17%	100%	No	No
	2.00E+00	31.2 ± 0.16	4.10E+02 ± 0.45	11%	100%	No	No
	2.00E+01	27.9 ± 0.05	4.08E+03 ± 0.14	3%	100%	No	No
	2.00E+02	24.7 ± 0.08	3.83E+04 ± 0.22	6%	100%	No	No
	2.00E+03	21.2 ± 0.10	4.51E+05 ± 0.30	7%	100%	No	No
	2.00E+04	18.3 ± 0.05	3.51E+06 ± 0.12	4%	100%	No	No

^a Measured by spectrophotometry. ^b Data are mean standard deviations. ^c Determined by corresponding qPCR assay. ^d A sample is under the limit of detection (LOD) when less than 90% of positive controls are showing significant fluorescence. ^e A sample is under the limit of quantification (LOQ) when a coefficient of variation (CV) higher than 25% is observed.

^f The *Anabaena rpoC1* gene qPCR assay with the *ARG* primers AN03 and AN06.

^g The *geosmin synthase* gene qPCR assay with the *GSG* primers 173AF and 173AR.

标准曲线根据两个 qPCR 方法的定量限,用 10 倍稀释的 AWQC-ANA318 DNA 以及 FADC-0001 DNA 建立标准曲线,如图 1.4 所示。在 ARG qPCR 中,DNA 模板的浓度范围为 0.2 pg (相当于 40 基因拷贝数)至 20 ng (4.0×10^6 拷贝数),而 GSG qPCR 中,范围为 2 pg (相当于 400 基因拷贝数)至 20 ng (4.0×10^6 拷贝数)。两方法的标准曲线公式分别为: ARG: $CT = -3.34 \log \rho_p + 36.65$ ($r^2 = 0.999$,扩增效率 = 99%)与 GSG: $CT = 3.27 \log \gamma_p + 39.71$ ($r^2 = 0.999$,扩增效率 = 102%),结果非常好,因此在本研究中,用这两个 qPCR 方法测定水体中鱼腥藻藻细胞密度与 geosmin 含量是可行的。



注: ρ_p is the ARG copy numbers in one qPCR reaction, and CT is the cycle threshold of qPCR amplifications. Error bars stand for the standard deviations (SD) from four independent amplifications (r, correlation coefficient; S, regression slope; B, intercept; e, amplification efficiencies)

图 1.4 ARG 和 GSG 定量 PCR 方法的标准曲线

1.1.5 ARG 定量 PCR 结果与显微镜计数结果对比

两个独立平行的实验室培养系列(AE1, AE2)用于模拟鱼腥藻爆发, 其初始藻细胞密度分别为 $1.28 (\pm 0.09) \times 10^6$ 和 $6.44 (\pm 0.04) \times 10^6 \text{ cells L}^{-1}$ (显微镜计数结果), 如图 1.5 所示(实线);紧接着进入大约 3 周的对数生长期, 形成了藻类爆发时的细胞密度。尽管两个系列初始浓度不同, 但在 4 周后细胞密度无显著差别($p=0.13$)。从第 5 周至第 8 周, 两个系列的藻细胞均有轻微减少; 然而, 由于死亡的藻细胞中营养盐的释放, 两个系列均出现第二次细胞增长期。

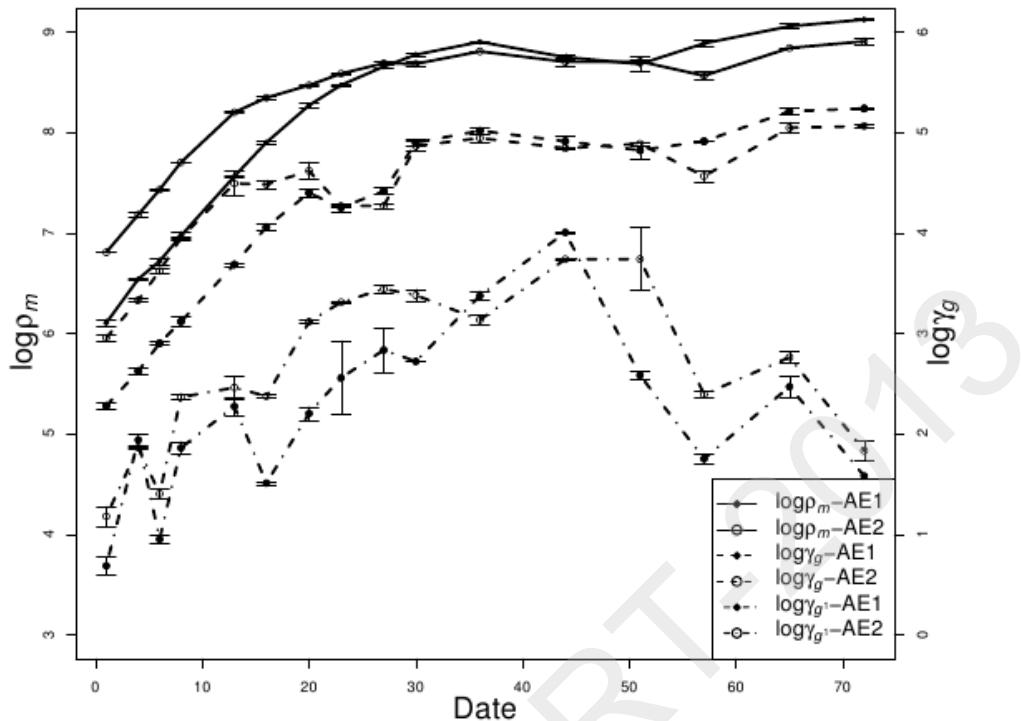


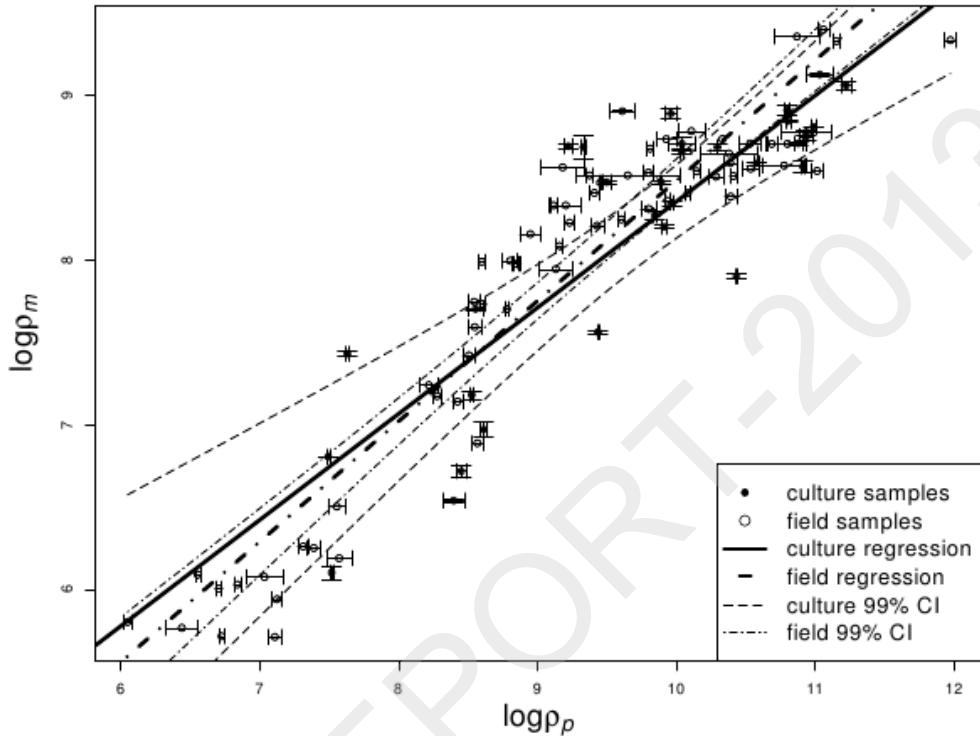
图 1.5 实验室模拟培养样品中藻细胞密度与 geosmin 浓度变化图

在模拟的鱼腥藻爆发过程中，藻细胞密度变化范围大约在 1×10^6 至 1×10^9 cells L⁻¹ 之间，(图 1.5);另一方面，通过用 ARG 定量 PCR 测定的 ARG 浓度变化范围大约在 1×10^6 至 1×10^{11} copies L⁻¹ 之间。通过对比发现，两种方法测定的结果具有很好的对数线性关系($r^2 = 0.726$, $p < 0.001$, 式 (1.1))

$$\log(\rho_m) = 0.6346 \log(\rho_g) + 1.919 \quad (1.1)$$

式中， ρ_p 和 ρ_m 分别表示用定量 PCR 方法测定的鱼腥藻 *rpoC1* 基因浓度和显微镜计数得出的藻细胞密度。图 1.6 中实心点为两种结果的对比，而粗实线则为 log - log 回归直线，细虚线为其 99% 的置信区间。根据这个回归方程，可以得出一个 AWQC-ANA318 藻细胞中大约存在 5–100 个 ARG 基因。为了评估环境水体中背景 DNA 和其他杂质对 ARG 定量 PCR 的抑制因素，采集了来自 7 个生物物理化学参数完全不同的水体总共 63 个环境水样，并同时被 ARG 定量 PCR 和显微镜计数测定。表 1.4 所示，QR 水质 pH 比较低(6.71)而电导率($1.192 \text{ ms } \mu\text{s}^{-1}$)和盐度(0.59 ng L^{-1})是最高的，另外水体中藻类种群较多，其中脆杆藻(*Fragilaria*)为优势藻^[35]；HH 的 pH 最高，而盐度与电导率较低，其优势藻为细胞壁较厚的丝状藻一直链藻(*Melosira*)。FP 和 LP 的藻密度非常高，其优势藻为鞘丝藻(*Lyngbya*)—一种可能短时间垄断水生生态系统的藻类^[36]；WML 的优势藻为盘星藻(*Pediastrum*)—一种在淡水水体中常见的藻类^[37]。衣藻(*Chlamydomonas*)是 YYT 中的优势藻，而裸

藻(*Euglena*)为 WYR 中的优势藻。从生物多样性角度来看,FP, LP, YYT and WML 的丰度(richness,^[38])大约为 20 左右, 相对较高, 而多样性指数^[39]在 1.35 至 10.62 之间, 表明各个水体的特征均不相同。



注: The data are 32 samples of AWQC-ANA318 strain from laboratory system (●) and 63 field samples spiked with FADC-0001 strain from field freshwater system (○). ρ_p (x-axis) is the ARG copy numbers determined by ARG qPCR assay, and ρ_m (y-axis) is the *Anabaena* cell density obtained by microscopic count. Error bars stand for the standard deviation from 3 independent microscopic count data and 6 independent ARG copy numbers. The log-log regression lines are based on the comparison between ρ_m and ρ_p of culture samples (thick solid line) and field samples (thick dot-dashed line), and the curves are the 99% confident interval (CI) of the two regression lines (culture, thin dashed lines; field, thin dot-dashed lines)

图 1.6 用定量 PCR 测定的 ARG 拷贝数与显微镜测定的藻细胞密度结果的对比



表 1.4 七个野外环境水体中的理化特征以及生物群落组成

地点	深度 (m)	盐度 (ng/L)	pH	电导 (ms/μs)	藻密度 (cells/L)	优势藻	其他藻类	R ^a	S-W 指数 ^b
WML	< 5	0.29	7.14	0.598	8,925,000	<i>Pediastrum</i>	<i>Chlorococccales, Synedra, Scenedesmus, Diatoma, etc.</i>	18	6.44
FP	< 3	0.29	7.14	0.598	461,100,000	<i>Lyngbya</i>	<i>Synedra, Scenedesmus, Merismopedia, Selenastrum, etc.</i>	22	1.99
YYT	< 4	0.2	7.09	0.414	9,390,000	<i>Chlamydomonas</i>	<i>Cyclotella, Scenedesmus, Melosira, Diatoma, etc.</i>	19	10.62
HH	< 2	0.2	7.82	0.42	2,600,000	<i>Melosira</i>	<i>Diatoma, Cyclotella, Pediastrum, Scenedesmus, etc.</i>	16	8.41
LP	< 5	0.39	7.25	0.797	301,700,000	<i>Lyngbya</i>	<i>Aphanocapsa, Merismopedia, Scenedesmus, Pediastrum, etc.</i>	20	1.35
WYR	-	0.41	7.53	0.834	4,701,000	<i>Euglena</i>	<i>Frustulia, Aphanizomenon, Synedra, Cyclotella, etc.</i>	8	1.63
QR	-	0.59	6.71	1.192	4,750,000	<i>Fragilaria</i>	<i>Cyclotella, Scenedesmus, Melosira</i>	4	1.46

^a The Richness index, the number of genus/species per sample^[38];

^b The Shannon-Weaver diversity index^[39].

所有野外环境样品最初均添加三种不同浓度的 FADC-0001 藻细胞，然后同时用 ARG 定量 PCR 和显微镜分别测定样品中 ARG 的密度以及藻细胞的含量，并用方差分析评估背景生物质对定量 PCR 的影响。 $\iota_1 (= \log(\rho_p/\rho_m))$ 为用细胞密度归一化的 ARG 拷贝数，所有样品的平均 ι_1 均在 1.17 (FP) 至 1.54 (QR) 之间，方差分析的结果表明每个采样点之间的样品结果并没有显著差别($F = 1.003, p = 0.43$, 图 1.7)

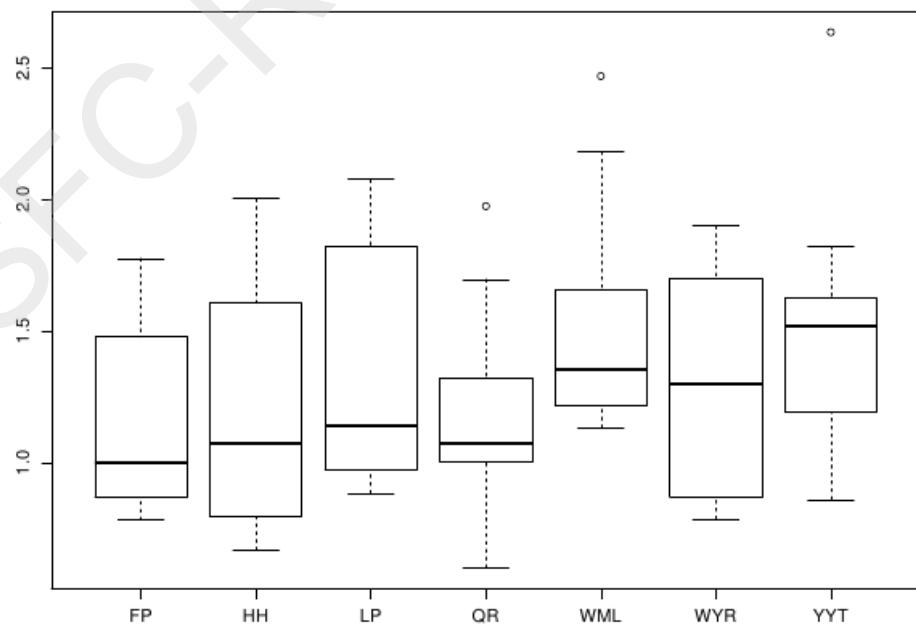


图 1.7 用方差分析方法评估背景生物质对 ARG 定量 PCR 的影响



将两种方法测定的 63 个环境样品中 ARG 基因浓度与藻细胞密度结果进行对比, 如图 1.6(空心点)所示, 另外粗虚线为对数线性回归直线, 细虚线为 99% 置信区间。可以看出, ARG 定量 PCR 结果与显微镜结果非常一致($\log \rho_m = 0.7301 \log \rho_p + 1.181$, $r^2 = 0.906$, $p < 0.001$);并且, 环境样品的回归方程与实验室模拟的回归方程十分接近, 表明 ARG 定量 PCR 可以用于环境水体中鱼腥藻生物量监测的快速工具。

1.1.6 GSG 定量 PCR 测定 GSG 基因密度与 GC - MS 分析法测定的 geosmin 浓度对比

图 1.5 中显示了两个实验室培养系列的 geosmin 浓度变化(胞内 geosmin:长虚线, 胞外 geosmin:短虚线); 胞内 geosmin 的浓度随鱼腥藻爆发程度和藻细胞密度增加而增加, 而胞外 geosmin 的浓度在前 7 周明显上升, 而在接下来 3 周迅速降低至非常低的水平。然而, 大部分的 geosmin 分布在胞内(82.9% - 100.0%, 表 1.5), 类似的结果有许多报道^[17, 34, 40, 41], 因此胞内 geosmin 比胞外 geosmin 更能代表其种群的生长与健康特征。另外, 用 GSG 定量 PCR 方法测定了培养体系中 GSG 基因密度, 并与 GC - MS 分析测定的 geosmin 的结果进行对比。结果表明, GSG 基因密度与胞内 geosmin 的浓度显著相关($r^2 = 0.742$, $p < 0.01$, 式 (1.2) $\log(\gamma_g) = 0.664\log(\gamma_p) - 2.100$ (1.2)), 其相关性高于胞外 geosmin 的浓度($r^2 = 0.253$, $p < 0.01$, 图 1.8), 原因可能为胞外 geosmin 被迅速降解^[17]。



表 1.5 实验室培养体系中 geosmin 成分分布

Date (day)	AE1			AE2		
	Extra- ^a	Intra- ^b	Intra- portion ^c	Extra-	Intra-	Intra- portion
1	5	191	97.5%	15	906	98.3%
4	88	423	82.9%	73	2151	96.7%
6	9	800	98.9%	26	4201	99.4%
8	73	1323	94.8%	233	8956	97.5%
13	190	4867	96.2%	295	31874	99.1%
16	32	11498	99.7%	237	30616	99.2%
20	161	25132	99.4%	1312	42079	97.0%
23	429	17993	97.7%	2043	18556	90.1%
27	730	26197	97.3%	2783	18643	87.0%
30	527	79501	99.3%	2416	73727	96.8%
36	2381	104830	97.8%	1365	88459	98.5%
44	10138	82235	89.0%	5494	69928	92.7%
51	385	67370	99.4%	6236	77521	92.6%
57	57	82067	99.9%	248	37137	99.3%
65	300	163121	99.8%	583	111917	99.5%
72	19	174101	100.0%	69	116593	99.9%

^a Extra-: extracellular geosmin concentration (ng L^{-1});

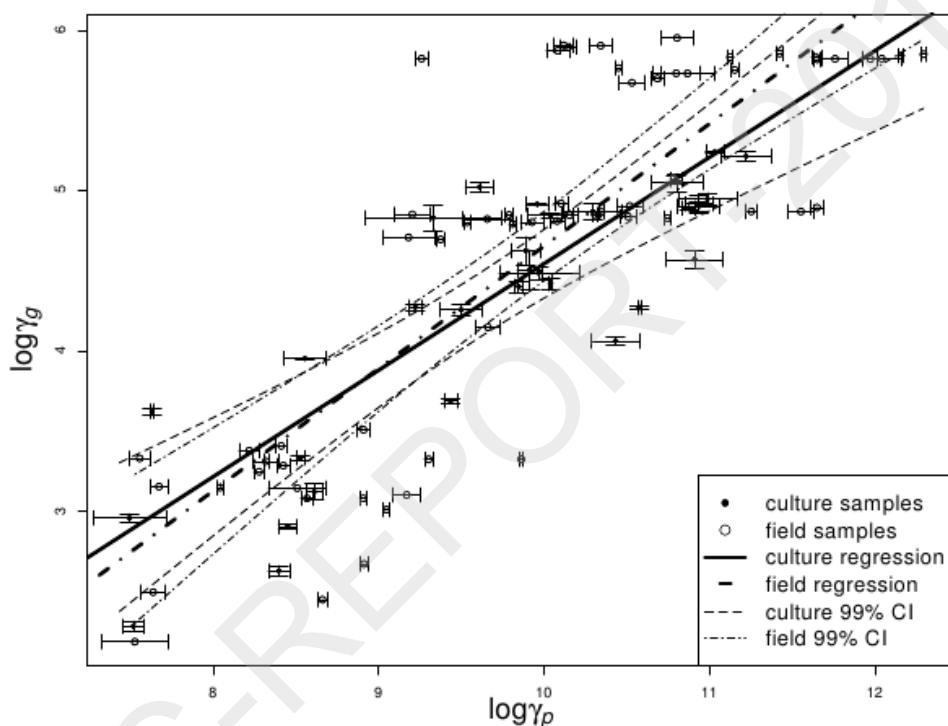
^b Intra-: intracellular geosmin concentration (ng L^{-1});

^c Intracellular geosmin concentration portion in total geosmin concentration.



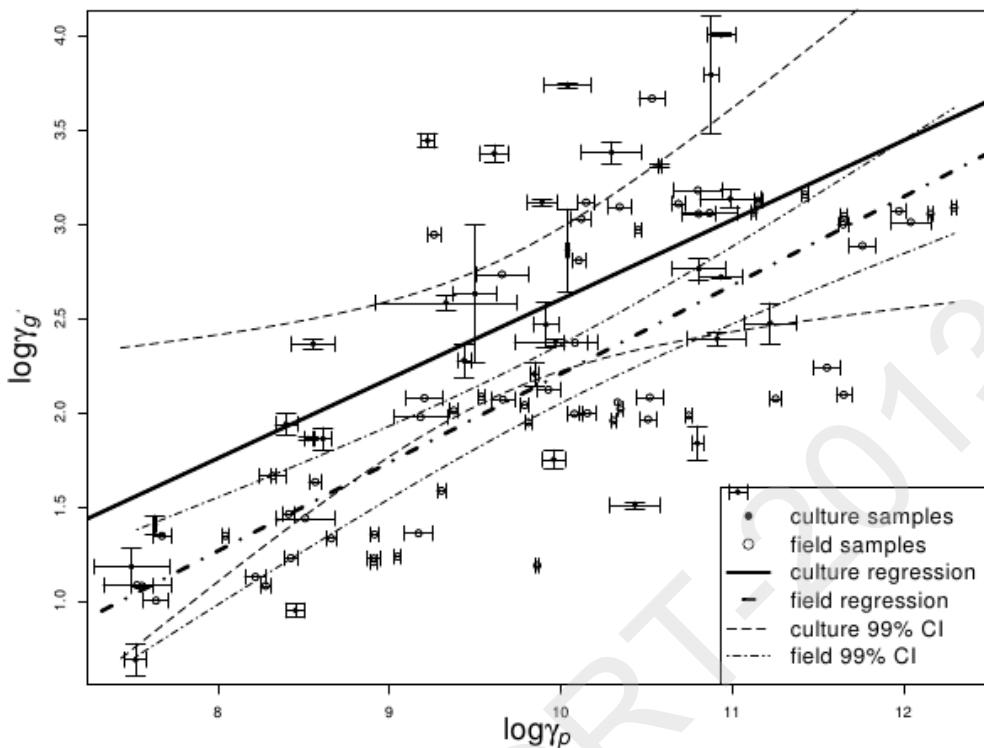
$$\log(\gamma_g) = 0.664 \log(\gamma_p) - 2.100 \quad (1.2)$$

式中 γ_g 表示用 GC-MS 分析法测定的胞内 geosmin 含量, 单位为 ng L^{-1} , 而 γ_p 表示用 GSG 定量 PCR 方法测定的 GSG 基因含量, 单位为 copies L^{-1} 。图 1.8 显示了实验室培养体系中 GSG 拷贝数(γ_p , x-axis)与胞内 geosmin 浓度(γ_g , y-axis)的对比。根据对数线性回归模型, 可以得出, AWQC-ANA318 藻细胞的产 geosmin 能力大约为 1–40 fg geosmin/GSG copy。而^[17] 报道的 2007 年中卷曲鱼腥藻产 geosmin 能力为 0.1 pg cell^{-1} ^[17]。



注: The determined data are 32 culture samples of AWQC-ANA318 strain from laboratory system (•) and 63 fieldsamples spiked with FADC-0001 strain from the field freshwater system (○). Error bars stand for the standard deviations from 3 independent geosmin concentration data and 6 independent GSG copy numbers. The log-log regression is used to explain the relations between GSG copy numbers and intracellular geosmin concentration for culture samples (thick solid line) and field samples (thick dot-dashed line), the curves are the 99% confident interval (CI) of two regression lines (culture, thin dashed lines; field, thin dot-dashed lines)

图 1.8 GSG 定量 PCR 方法与 GC - MS 方法测定胞内 geosmin 浓度的对比



注: The determined data are 32 culture samples of AWQC-ANA318 strain from laboratory system

(•) and 63 field samples spiked with FADC-0001 strain from the field freshwater system (○). Error bars stand for the standard deviations from 3 independent geosmin concentration data and 6 independent GSG copy numbers. The log-log regression is used to explain the relations between GSG copy numbers and extracellular geosmin concentration for culture samples (thick solid line) and field samples (thick dot-dashed line), the curves are the 99% confident interval (CI) of two regression lines (culture, thin dashed lines; field, thin dot-dashed lines)

图 1.9GSG 定量 PCR 方法与 GC - MS 方法测定胞外 geosmin 浓度的对比

用 GSG 定量 PCR 方法测定了 63 个环境样品中 GSG 基因含量，并与 geosmin 浓度进行对比，用于检验 GSG 定量 PCR 方法的可用性。同样地，用方差分析方法分析了背景生物质对定量 PCR 的影响。 $t_2 (= \log(\gamma_g / \gamma_p))$ 是单个 GSG 基因的 geosmin 产量的对数，所有样品的平均 t_2 值在 4.96 (QR) 至 5.7 (WML) 之间，如图 1.10 所示，方差分析结果表明各采样点之间的背景生物质对定量 PCR 没有显著影响 ($F = 2.27, p = 0.053$)。

图 1.8 显示了定量 PCR 方法测定的 GSG 基因拷贝数与 GC-MS 分析法测定的 geosmin 含量的对比结果；结果表明两种方法之间存在显著的相关性 ($\log \gamma_g = 0.763 \log \gamma_p - 2.98, r^2 = 0.694, p < 0.001$, 短粗虚线)。与培养体系(实心点)相比，环境样品(空心点)的浓度分布范围更广。最高的胞内



geosmin 大约为 $1 \times 10^6 \text{ ng L}^{-1}$, 远远超出了真实环境中的浓度, 在此水平下, 定量 PCR 的结果比 GC-MS 分析方法具有更大的方差, 这可能是因为模板 DNA 浓度过高所致。作为卷曲鱼腥藻 geosmin 合成基因表达的后续研究, 本研究提供利用 GSG 定量 PCR 评估环境水体中 geosmin 浓度水平的快速方法。

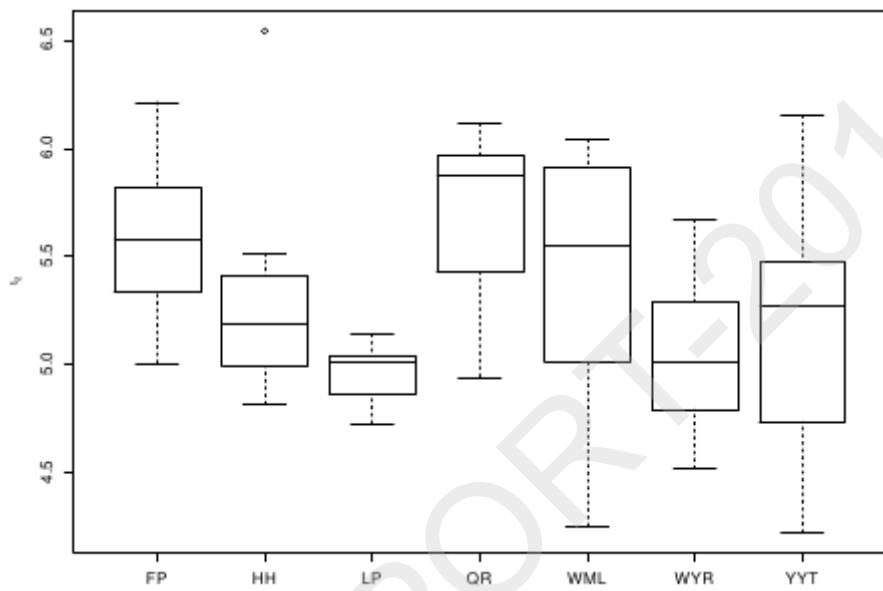


图 1.10 用方差分析方法评估背景生物质对 GSG 定量 PCR 的影响

1.1.7 方法可行性分析

尽管两种方法分别可以评估水体中鱼腥藻藻细胞的含量和 geosmin 的含量, 与传统方法相比, 定量 PCR 方法显示了相对较高的方差, 有可能会形成对定量 PCR 方法可行性的挑战。因此, 定量 PCR 测定方法中发差的来源分析是非常重要的。一方面, 环境样品结果与培养体系结果的一致性表明, 环境水体中的背景生物质并非主要的原因, 另一方面, 在所有培养体系样品和野外环境样品中, ARG 基因和 GSG 基因之间具有非常高的一致性(图 1.11, $r^2 = 0.9455$, $p < 0.001$), 说明主要的方差的来源很可能是由 DNA 提取过程中产生的, 而并非来自 PCR 扩增过程。此外, 样品中高浓度的 DNA 很可能对商业化的 DNA 提取试剂盒具有抑制效应, 并且试剂盒提取 DNA 往往需要非常多的步骤, 导致实验误差严重偏高。因此找到一种简单(步骤少)快速的 DNA 提取方法是一种可能的优化方法。有报道用微波炉来提取蓝藻 DNA 是一种很好的方法^[42, 43]; 并且在本研究中建立的两个定量 PCR 方法的定量限都非常低, 因此用微波炉方法提取 DNA 并结合两个定量 PCR 方法测定水体中鱼腥藻生物量和 geosmin 含量是可行的。

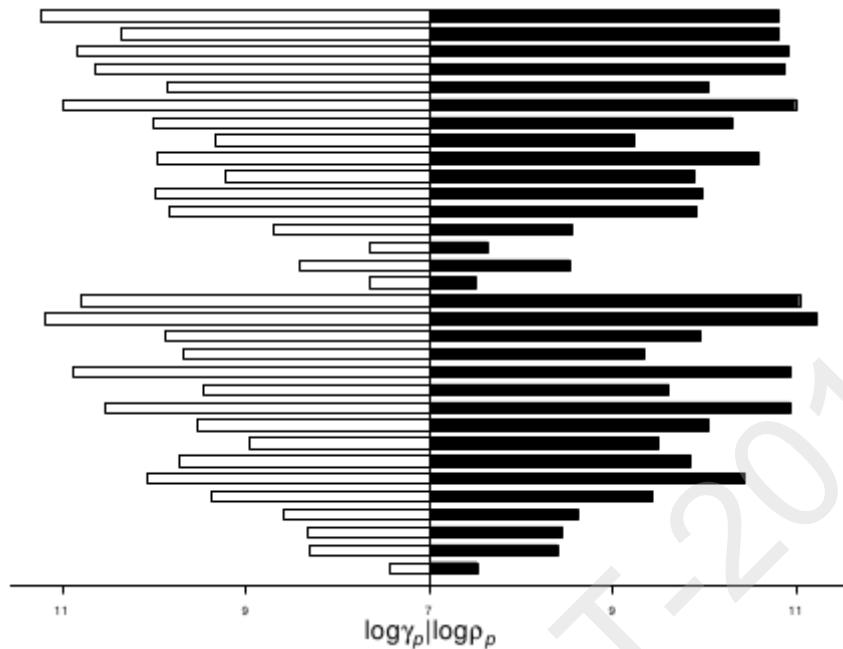


图 1.11 定量 PCR 方差分析

最近的研究中有人用定量 PCR 方法测定水体中产毒微囊藻的生物量^[21] 以及产柱胞毒素的蓝藻生物量^[44]。与这些研究结果相比，本研究能够用相同的 PCR 条件同时测定鱼腥藻生物量及其 geosmin 产量，这对于在产嗅藻爆发的事件中非常有用。此外，ARG 和 GSG 引物分别能够扩增多种重要的鱼腥藻(*A. circinalis*, *A. spiroides* and *A. flos-aquae* etc.)的 *rpoC1* 基因和 geosmin 合成基因，而且非常低的定量限允许两个定量 PCR 方法均可以监测鱼腥藻爆发的全过程。因此，这两个定量 PCR 方法可以用于评估环境水体中鱼腥藻及 geosmin 的含量。

1.1.8 结论

快速测定水体中产嗅鱼腥藻及 geosmin 含量的方法显著的提高了饮用水和工农业供水的管理能力。本研究工作建立了两个定量 PCR 方法，能够分别测定水体中鱼腥藻和嗅味物质的水平，并通过与传统标准方法比较发现，两者均具有很好的可行性和可靠性。

1.2 小结

本章介绍了本研究中野外监测的主要方法和途径，为野外水库藻类动态以及水质调查提供了方法学基础，其中包含许多在研究中学习、总结出来的，也包含许多原创性内容，比如：底栖藻类采样方法、水库表层水质水平扫描分析方法，水库库底地形扫描方法以及自组装全自动气象站的建立等等，在水库野外采样、监测和调查时具有很大的借鉴作用。除此以外，在本研究中还开发的一些



新方法和新工具，其中水体中痕量磷的测定是水质监测中长期的难题，改进的消解方法很大程度上简化了传统繁琐的操作步骤，并一定程度上的降低了实验安全风险；藻类的计数工具的开发极大的降低了计数者的工作量，实现了半自动计数；而定量 PCR 方法的建立允许野外在线监测藻类及其嗅味代谢产物，这些新方法新工具在水库水质和藻类监测中具有非常重要的意义，并已经发表在 Water Research 杂志上^[45]。



第二章 藻类生长及其有害次生产物产生规律解析

2.1 藻类藻毒素产生规律研究

通过对洋河水库水质及藻毒素的调查,发现洋河水库总磷低于 0.10 mg/L, 总氮含量在 2~5 mg/L, 在此条件下, 均有藻类生长。洋河水库主要以蓝藻为主, 而微囊藻又是蓝藻水华的优势藻种, 所以选用铜绿微囊藻为研究对象, 对其进行实验室培养, 观察不同磷源及浓度对铜绿微囊藻生长和产毒的影响。

2.1.1 不同磷源对铜绿微囊藻生长和产毒的影响:

选用磷酸氢二钾、焦磷酸钠、三聚磷酸钠、 β 甘油磷酸钠、卵磷脂为磷源, 研究不同磷源对铜绿微囊藻生长和产生藻毒素的影响。在培养基中接入光密度为 0.2 左右的无磷化铜绿微囊藻, 其生长情况如图 2.1。可以看出在相同的磷浓度条件下, 无机磷中磷酸氢二钾能有效促进铜绿微囊藻的生长, 有机磷中卵磷脂能促进铜绿微囊藻的生长。在有机磷和无机磷对微囊藻生长影响的研究中发现, 无机磷以及小分子有机磷的生物有效性比较高, 正磷酸盐是最易吸收和利用的一种磷酸盐, 三种无机磷中正磷酸盐最易被藻类吸收, 而焦磷酸盐和三聚磷酸盐不宜被藻类吸收。从图中不难看出无磷组的藻依旧能够生长, 说明藻细胞在无磷的条件下依旧能够维持基本的生长, 但在实际培养中无磷组随着培养时间的不断延长, 藻液逐渐变黄, 进一步说明铜绿微囊藻在较低磷的条件下能够维持生命力, 但不能够维持较长的时间^[3]。所选用的两种有机磷中, 卵磷脂组初期细胞生长较慢, 但培养 17 天后藻细胞开始快速分裂生长, 细胞个数增加较快, 这与一些报道藻类在初期更容易利用大分子的卵磷脂相异^[4]。在相同磷浓度的条件下, 总体上铜绿微囊藻在无机磷源的条件下能较好的生长。

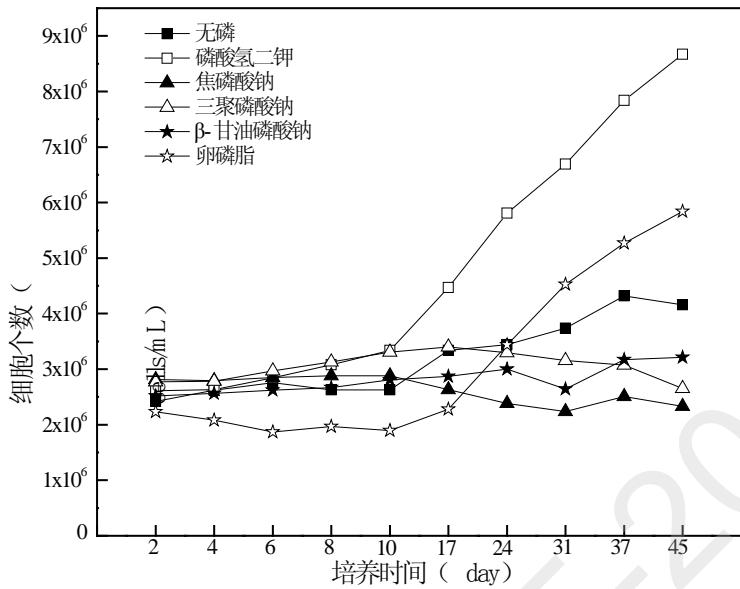


图 2.1 不同磷源条件下铜绿微囊藻的生长曲线

在铜绿微囊藻生长的过程中通过采集同体积的藻液，利用高效液相色谱仪测定其胞内及胞外藻毒素的浓度，以发现藻毒素在藻类生长过程中产生规律，毒素浓度如图 2.2 所示：

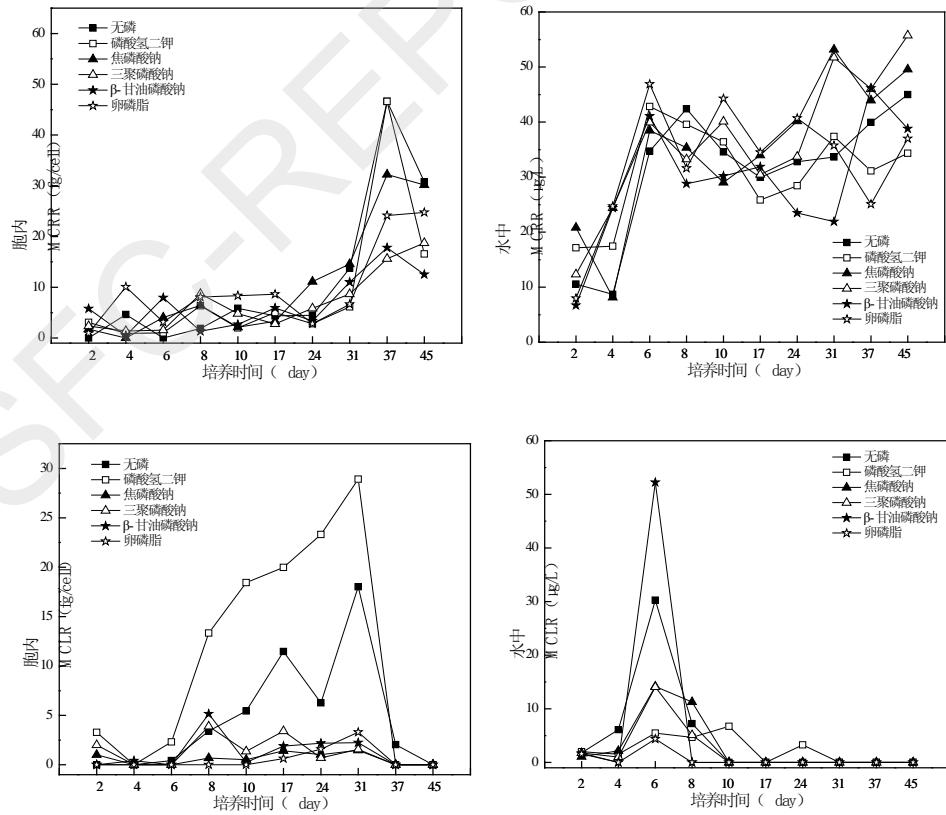


图 2.2 不同磷源条件下藻毒素的浓度变化

藻毒素浓度变化图可以看出胞内藻毒素 RR 不断增加，后期藻毒素的含量较高，以卵磷脂为磷源时藻毒素 RR 的含量相对比较高，推测卵磷脂可以促进藻毒素 RR 的产生；水中可溶性藻毒素 RR 的变化，均为初期藻毒素的含量较低，后期藻毒素含量不断积累，卵磷脂组水中藻毒素 RR 的平均浓度高于其它磷源，可以推测卵磷脂有利于 MC-RR 的释放。由此我们可以推测卵磷脂有利于藻毒素 RR 的产生和释放，具体原因有待进一步的确认。

藻毒素 LR 初期含量比较低，随着藻细胞的生长，胞内藻毒素有所增加。不同磷源对铜绿微囊藻产生的藻毒素 MCLR 有所不同，以磷酸氢二钾为磷源时胞内藻毒素 LR 明显高于其他各组，说明以磷酸氢二钾为磷源时能够促进胞内藻毒素 LR 的生成。无磷组藻毒素的浓度也比较高，推测的原因可能是藻细胞在此条件下不能有效生长，故会产生藻毒素改变生活条件。

2.1.2 不同磷源及浓度对铜绿微囊藻生长和产毒的影响：

研究进一步选用磷酸氢二钾及 β 甘油磷酸钠为磷源，在自然水体中含磷浓度的基础上，设定了 0.02、0.05、0.10、0.20 mg/L 四个浓度梯度，研究不同浓度磷对铜绿微囊藻生长及产生藻毒素的影响。

铜绿微囊藻生长的情况如图 2.3 所示。以磷酸氢二钾为磷源时，铜绿微囊藻生长的四个时期比较明显，大致可以分为 0 ~ 6 天为延滞期，7 ~ 32 天为对数期，33 ~ 72 天为稳定期，72 天以后为衰亡期。磷的浓度为 0.20 mg/L 时，单位体积内藻的细胞个数明显高于其他三个浓度，由起始浓度 2×10^6 cells/L 增加到约 10×10^6 cells/L。随着磷浓度的增加，单位体积细胞个数相应地增加。以 β -甘油磷酸钠为磷源时，铜绿微囊藻生长的四个时期不明显，细胞数量增加不明显，仅由 2.1×10^6 cells/L 增加到约 3.6×10^6 cells/L，外加磷的浓度越高，细胞生长的越缓慢，当磷浓度为 0.20 mg/L 时，整个生长周期内细胞的数量基本上维持在初始浓度。可以得出磷酸氢二钾比 β -甘油磷酸钠有利于微囊藻细胞的生长。在有机磷和无机磷对微囊藻生长影响的研究中发现，无机磷以及小分子有机磷的生物有效性比较高，正磷酸盐是最易吸收和利用的一种磷酸盐，磷酸氢二钾为正磷酸盐的代表性盐， β -甘油磷酸钠为有机磷小分子盐，藻细胞可以充分利用磷酸氢二钾，却不能有效的利用 β -甘油磷酸钠，导致以 β -甘油磷酸钠为磷源时细胞数量一直处于细胞生长率与死亡率基本保持一致的状态。

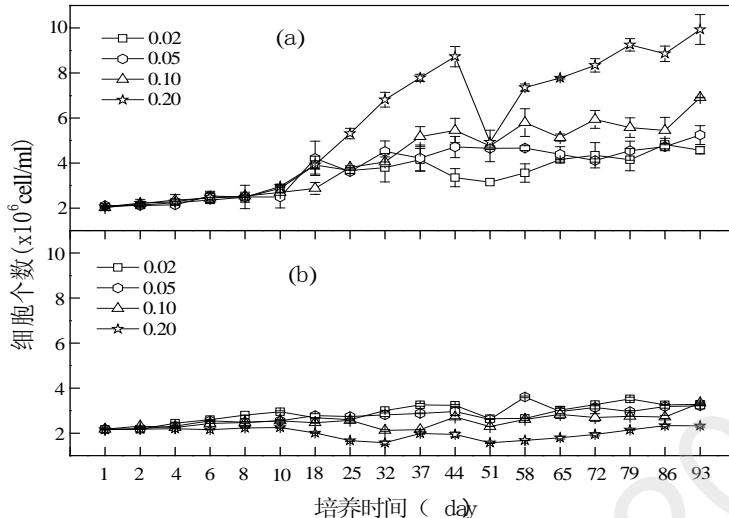


图 2.3 不同磷源条件下铜绿微囊藻的生长曲线 (a 磷酸氢二钾 ; b β -甘油磷酸钠)

以磷酸氢二钾为磷源时, 细胞内藻毒素含量变化如图 2.4 所示。单个细胞中 IMC-LR 的含量在细胞分裂前逐渐升高, 在第 6 天达到最大值(磷浓度为 $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 胞内毒素含量为 $28.86 \text{ fg} \cdot \text{cell}^{-1}$)。添加磷源培养后的前几天, 细胞处于延滞期, 大量吸收磷后自身生长使细胞体积增大, 单个细胞所含毒素的含量相应增加。在接种 8 天以后, 细胞利用内源性磷进行增殖与分裂使数量快速增加, 因此, 单个细胞内藻毒素含量急剧下降。而后随着细胞的生长, 单个细胞中的藻毒素含量又有逐渐升高的趋势。研究过程中还测定了胞外藻毒素含量的变化, 发现在培养过程中均存在一定量的胞外藻毒素, 说明在细胞分裂或生长的过程中会向外界释放出毒素。因此, 在培养第 8 天时胞内毒素降低的原因不仅与细胞快速分裂有关, 而且与藻毒素释放有关。有研究表明, 藻毒素在叶绿素的存在下可以光降解, 当叶绿素浓度为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 日光照射 30min 后 MC-LR 的去除率分别为 65%、56%。在整个培养过程中虽然均检测到胞外藻毒素存在, 但由于光降解等原因, 所检测到的胞外藻毒素含量并非真正释放的量。

MC-RR 含量的变化趋势与 MC-LR 基本一致, 但其含量高于 MC-LR 含量 (图 2.4b)。外加磷浓度为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, IMC-RR 含量较高并在第 6 天达到最高值。而在磷浓度为 $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 单个细胞中的 MC-RR 相对较低, 这可能是在适宜的磷浓度条件下, 细胞主要利用磷进行自身分裂生长较快, 而相对应其单个细胞中的藻毒素含量较少。

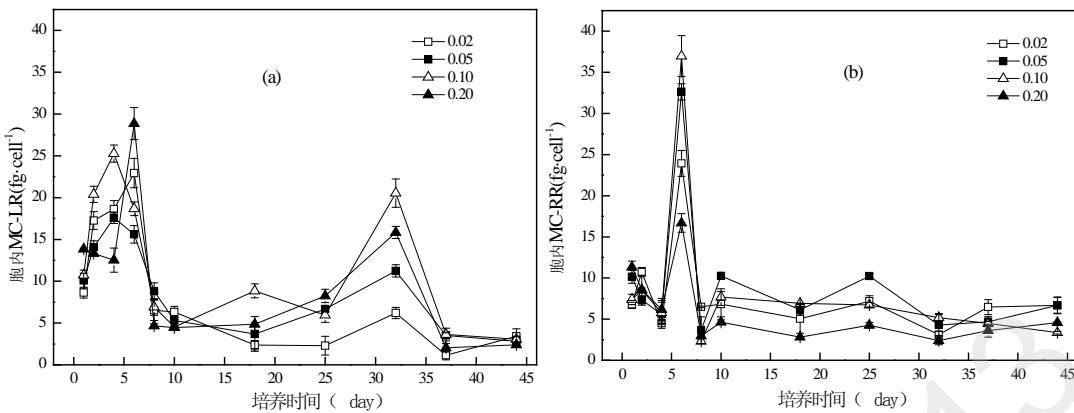


图 2.4 磷酸氢二钾为磷源时胞内藻毒素含量随培养时间的变化 (a. 胞内藻毒素-LR; b. 胞内藻毒素-RR)

以 β -甘油磷酸钠为磷源时细胞内藻毒素含量随培养时间的变化如图 2.5 所示。IMC-LR 和 IMC-RR 含量在细胞分裂前逐渐升高并在第 6 天左右达到最大值(磷浓度为 $0.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, IMC-LR 含量为 $18.40 \text{ fg} \cdot \text{cell}^{-1}$; 磷浓度为 $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, IMC-RR 含量为 $26.44 \text{ fg} \cdot \text{cell}^{-1}$)。此时细胞体积不断增大, 而细胞个数并未明显增加, 所以单个细胞内毒素的含量相对其他时间较高。由图 2.3 b 和图 2.5 b 可以看出, 铜绿微囊藻对 β -甘油磷酸钠的利用较少, 在整个生长周期内其生物量以及细胞内毒素的含量均较少。

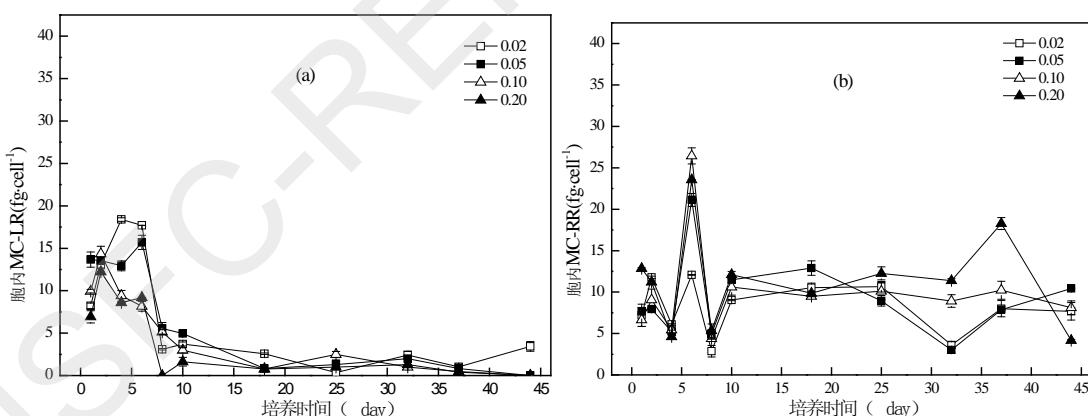


图 2.5 β -甘油磷酸钠为磷源时胞内藻毒素含量随培养时间的变化((a. 胞内藻毒素-LR; b. 胞内藻毒素-RR))

由此可以得出: 以磷酸氢二钾和 β -甘油磷酸钠为磷源时, 铜绿微囊藻在生长过程中均能产生 MC-LR 和 MC-RR 两种毒素。磷酸氢二钾能促进细胞内毒素的生成, 由于藻细胞利用 β -甘油磷酸钠较少, 胞内毒素的含量均低于以磷酸氢二钾为磷源时同时期的毒素含量。

2.2 藻类嗅味产生规律研究

2.2.1 前言

随着蓝藻水华和其引起的嗅味问题多发，了解环境因子对蓝藻生长和嗅味产生的影响对预测嗅味出现和发展动态，控制嗅味物质的产生至关重要。季节的变化主要引起温度和光照的变化，而对于实际水体中的氮磷等营养元素变化没有明显的季节变化规律。已经有一些人对温度和光照对蓝藻产嗅的影响进行了研究，但得到的结果很不一致，具体参见第一章。造成不同结论的原因很可能是采用的藻种和培养条件不一样。此外，实验室培养的蓝藻最初都是从环境中分离得来，其鞘和胶质中常有细菌共生，一般很难得到不含细菌的纯藻，通常意义上的纯藻只是指不含别的藻。如 Aoyama 等从一鱼腥藻纯培养中分离到了 28 株细菌，其中八株为假单胞菌^[144]。Lupton 和 Marshall 也发现假单胞菌能附着在鱼腥藻的异形细胞上^[145]。已有研究表明 geosmin 和 MIB 能被一些细菌降解，其中包括假单胞菌、鞘氨醇单胞菌、 α -变形菌等。这些与藻共存的细菌很可能降解 geosmin 和 MIB，而这一点被以前的研究者所忽视。此外，嗅味物质为挥发性和半挥发性物质，其挥发散失也必须考虑。藻类生长周期通常在 20~40 天之间，且不能密封培养，嗅味物质长时间的持续挥发也不能轻易被忽略，以前的研究中也没有针对挥发损失进行讨论而直接把所测嗅味物质作为嗅味产生量。

为深入了解蓝藻的嗅味产生机制和原位损失情况，及为洋河水库出现的螺旋鱼腥藻产 geosmin 出现在夏季，且出现了迅速消失的现象；和密云水库的颤藻/席藻产 MIB 出现在秋季，检出了高浓度的 geo 基因而没有检出高浓度的 geosmin 的情况寻求解释。本章系统的研究了温度和光照对三种产嗅蓝藻的生长，产嗅情况和嗅味物质的胞内外分布，叶绿素合成等的影响，并进行挥发和原位细菌的嗅味物质生物降解参照实验。所选用的三种藻包括了两种主要的生态型（浮游型和底栖型）及两种主要的藻源嗅味物质（geosmin 和 MIB）。利用主成分分析法（Principal Component Analysis, PCA）对环境因子和嗅味浓度、叶绿素水平等进行了综合分析，且利用 PCR-DGGE 验证了这些藻培养体系中都包含有细菌，测序鉴定了细菌的具体种属，初步总结了光照和温度对蓝藻产嗅影响的一般规律。

2.2.2 产嗅蓝藻培养

浮游的卷曲鱼腥藻变种 (*Anabaena circinalis*, Ana318) 从澳大利亚新南威尔士州 Pejar Dam 分离得到，培养基为 ASM-1^[146]，其产生高浓度的 geosmin 和微量的 MIB；底栖席藻 (*Phormidium amoenum*, Pho 012) 从澳大利亚南澳州 Happy Valley 水库分离得到，培养基同为 ASM-1，其产生较高浓度的 geosmin 和少量的 MIB；另一底栖席藻 (*Phormidium* sp., Pho 689) 从美国加州 Mathews 湖分离得到^[147]，用 WC 培养基^[148]培养，其产生高浓度的 MIB 和少量的 geosmin。都用一次性无菌的

250 mL 带透气盖（0.22 μm 滤膜）方形细胞培养瓶（IWAKI 3123-075）培养，蓝藻培养体系及显微照片见图 2.6。



注：从左到右分别为 *Ana318*, *Pho 012*, *Pho 689*, 并列的培养体系光照强度不同。

图 2.6 蓝藻培养体系及显微照片

在灭菌后冷却超过 24 小时的培养基中接种蓝藻后放在摇床上于光照培养箱培养(Contherm[®] Digital series 1800CP)中培养。培养温度 25 或 18°C, 两种光照强度分别为高光照系列 (HL, 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$) 和低光照系列 (LL, 10 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$), 12h/12h 明暗光周期。摇床转速 100 r/min, 每天更换培养瓶位置以减少光照不均的影响, 到取样时拿出三瓶进行细胞数, 叶绿素, 嗜味物质等分析。

2.2.3 藻细胞计数

藻细胞计数方法参见第二章, 用配备长工作距离物镜的尼康 50i 显微镜和 1 ml 的计数板 (Sedgewick Rafter), 取样后鱼腥藻直接加鲁戈氏液固定待计数, 席藻用细胞研磨器(HALU[®])和超声进行细胞团块和丝状藻群体分散后再取样固定待检, 超声功率 300 W, 采用 2 s 脉冲超声, 尽量减少细胞损失。鱼腥藻直接细胞计数, 席藻先计算平均细胞长度后计数总藻丝长度后换算成细胞数, 藻细胞计数误差小于 $\pm 20\%$ 。

2.2.4 叶绿素分析

用 GF/C 玻璃纤维滤膜过滤一定体积分散后的蓝藻培养液，用 95%丙酮冷冻避光萃取超过 24 小时，用紫外可见分光光度计测量其在 665 nm, 649 nm, 750 nm 的吸光度，按照公式计算得到叶绿素 a 的含量^[149]。

2.2.5 挥发参照实验

藻培养用的细胞培养瓶中装 200 ml 灭菌后的 ASM-1 培养基，加入 40 mg/L 的氯化汞抑制生物降解和一定浓度的 geosmin/MIB 标样，放在摇床上于培养箱中 25°C 或 18°C 恒温震荡，转速和培养时一样为 100 r/min，在预定的时间取两个平行样，将溶液转入棕色玻璃瓶中 4°C 储存待检。25°C 采用了两个一高（1000 ng/L 左右）一低（100 ng/L 左右）初始浓度，发现没有明显差异后，18°C 只做了一个较高的初始浓度。动力学参数用 Origin 拟合。

2.2.6 原位细菌降解实验

取第 28 天的藻培养体系，用双层 GF/C 滤膜过滤，去除藻细胞而保留细菌。在该溶液中加入 1000 ng/L 左右的 geosmin/MIB 样以确保两种嗅味物质都有一定浓度的存在。把该溶液分装到一系列 50 ml 棕色玻璃瓶中，瓶盖不拧紧，放入和培养一样的温度的恒温培养箱，一定时间取出三瓶，加入 40 mg/L 的氯化汞终止反应，拧紧瓶盖 4°C 储存待检。

2.2.7 蓝藻生长

细胞增长、叶绿素浓度变化及叶绿素含量变化见图 2.7。*Ana 318* 通常为两个或四个细胞的小个体，少量多细胞长链，但在生长后期 20~40 个细胞的长链出现增多，平均细胞直径 $5.2 \pm 0.3 \mu\text{m}$ ，异形细胞（heterocyst）直径 $12 \pm 0.5 \mu\text{m}$ ，通常呈现蓝绿色，细胞悬浮生长。在四个条件下，最大的生长速度出现在 25HL 系列，其次为 18HL 系列，说明温度和光照都影响其细胞增长。叶绿素的增长和细胞增长类似，但 25HL 系列在 17 天后出现了稍微下降，同时其培养体系颜色也由蓝绿色变成黄色。第 28 天时的叶绿素浓度 $1500 \mu\text{g/L}$ ，明显高于其他三个系列的约 $900 \mu\text{g/L}$ 。叶绿素含量在培养中期稍高，对数增长后期出现了叶绿素含量下降的趋势。说明叶绿素含量能一定程度上表征细胞群体的健康状态，在藻群体快衰亡时叶绿素含量的下降会引起其颜色的改变。

Pho 012 的平均细胞大小为 $3.0 \pm 0.2 \mu\text{m} \times 2.5 \pm 0.2 \mu\text{m}$ ，其藻丝长度能到几毫米，一般贴壁生长，颜色深绿。除 25HL 系列外，其细胞生长非常缓慢，这是因为 *Pho 012* 贴壁生长，形成比较致密的藻团体，类似一层生物膜或描述为垫状（Mat），光线不能透过，产生类似接触抑制（contact inhibition）的现象，细胞不能快速分裂增长。而 25HL 系列由于初期细胞增长很快，藻细胞聚集体（膜）从培

养瓶壁脱落分散，不影响光的穿透。虽然 18℃的两个系列细胞数远小于 25HL 系列，但其叶绿素浓度却十分接近，这是因为弱光促使其叶绿素的合成增加、含量上升到 25HL 系列的 3~5 倍。

Pho 689 的平均细胞大小为 $6.7 \pm 0.7 \mu\text{m} \times 3.4 \pm 0.3 \mu\text{m}$ ，远大于 *Pho 012*，其藻丝长度也能到几毫米，一般形成类似乱线团或发丝状的松散群体，集中在培养瓶下方，呈现暗棕色。其最大细胞密度出现在 25HL 系列，但只有 $1.25 \times 10^6 \text{ cells/ml}$ ，远小于其他两种蓝藻，这可能是因为其细胞个体较大的原因。高温系列的细胞增长较快，但叶绿素浓度水平相仿，其原因在于低温系列的叶绿素含量高于高温系列，其含量也明显高于其他两蓝藻，这可能是其呈现暗棕色的原因。25HL 系列在对数增长后期叶绿素含量和总浓度明显下降，但细胞数保持缓慢增长，此时其颜色由暗棕色编号为灰黄色，细胞团块松散破碎。综合其他两藻的情况，说明蓝藻培养后期叶绿素含量的下降是藻群体进入衰亡阶段的前兆，同时可能伴随着藻群体形态的变化。

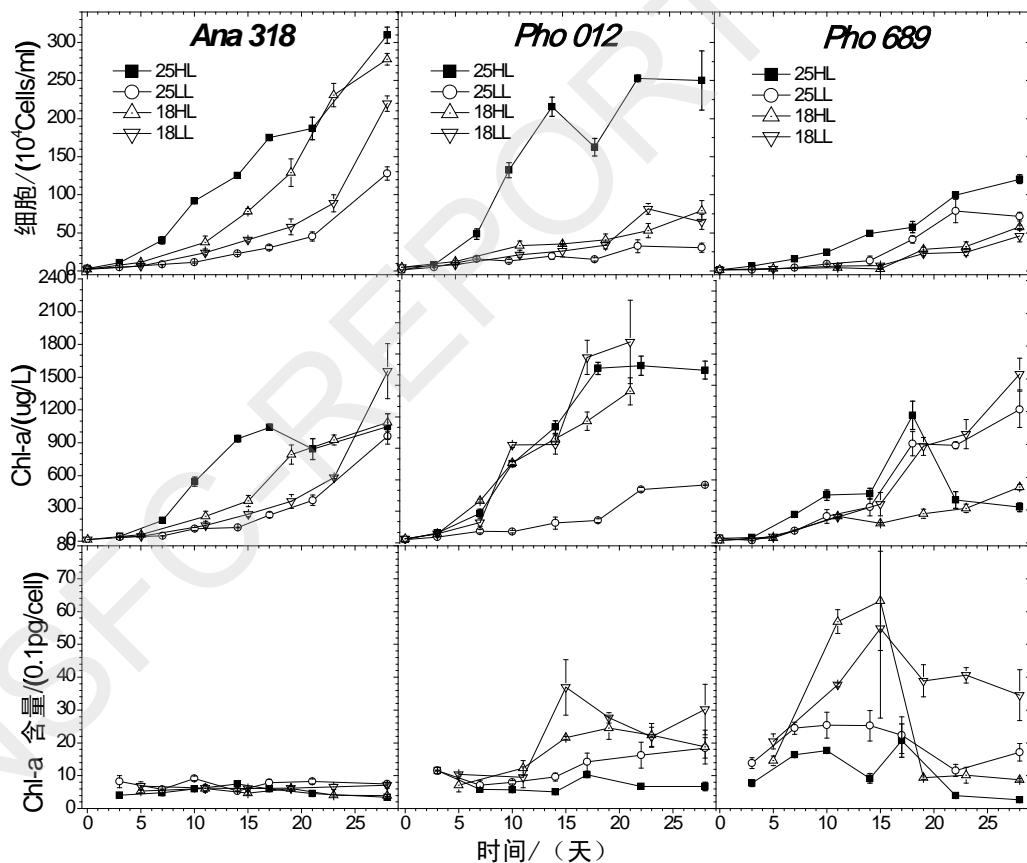


图 2.7 蓝藻生长曲线

2.2.8 嗅味产生

嗅味的产生情况、嗅味细胞内外分布和平均含量见图 2.8。但从产量来看，*Ana 318* 的 geosmin 产量明显高于 *Pho 012*，而 *Pho 689* 产生 MIB 浓度又高于其他两蓝藻的 geosmin 产量。*Ana 318* 的



geosmin 增长曲线和其细胞和叶绿素的曲线的类似，最高浓度出现在 25HL 系列，其在对数增长后期也出现了短暂的下降；geosmin 绝大部分以胞内形态存在，随着细胞群体的老化，细胞内含量有稍微的降低；两低光照系列的平均 geosmin 含量略高于高光照系列。*Pho 012* 的 geosmin 产生情况类似其叶绿素，除 18LL 系列外，其他三者的 geosmin 产量相仿；geosmin 60~80% 以胞内存在，且随着细胞群体老化有明显的下降，除了 *Pho 012* 细胞本身 geosmin 的含量略低外，其胞内比例低于 *Ana 318* 的可能原因为细胞群体分散过程中不可避免的会带来一些细胞的破坏而到时胞内 geosmin 释放，以及原位的降解少于 *Ana 318* 系列；低温系列的 geosmin 含量明显高于高温系列，在对数增长后期低温系列 geosmin 含量大约是高温系列的 4~5 倍。*Pho 689* 的最大 MIB 产量出现在 25HL 系列，高温系列的产量高于低温系列主要是因为其细胞密度高于低温系列；MIB 主要以细胞外形态存在，细胞内比例只有 20~40%；MIB 的含量低温系列高于高温系列，其波动较大，最大 MIB 含量出现在 18HL 系列的对数增长中期，为其他系列的 4~5 倍。Geosmin/MIB 细胞内外的分布可能与其原位损失有关，这些在随后的讨论中详述。

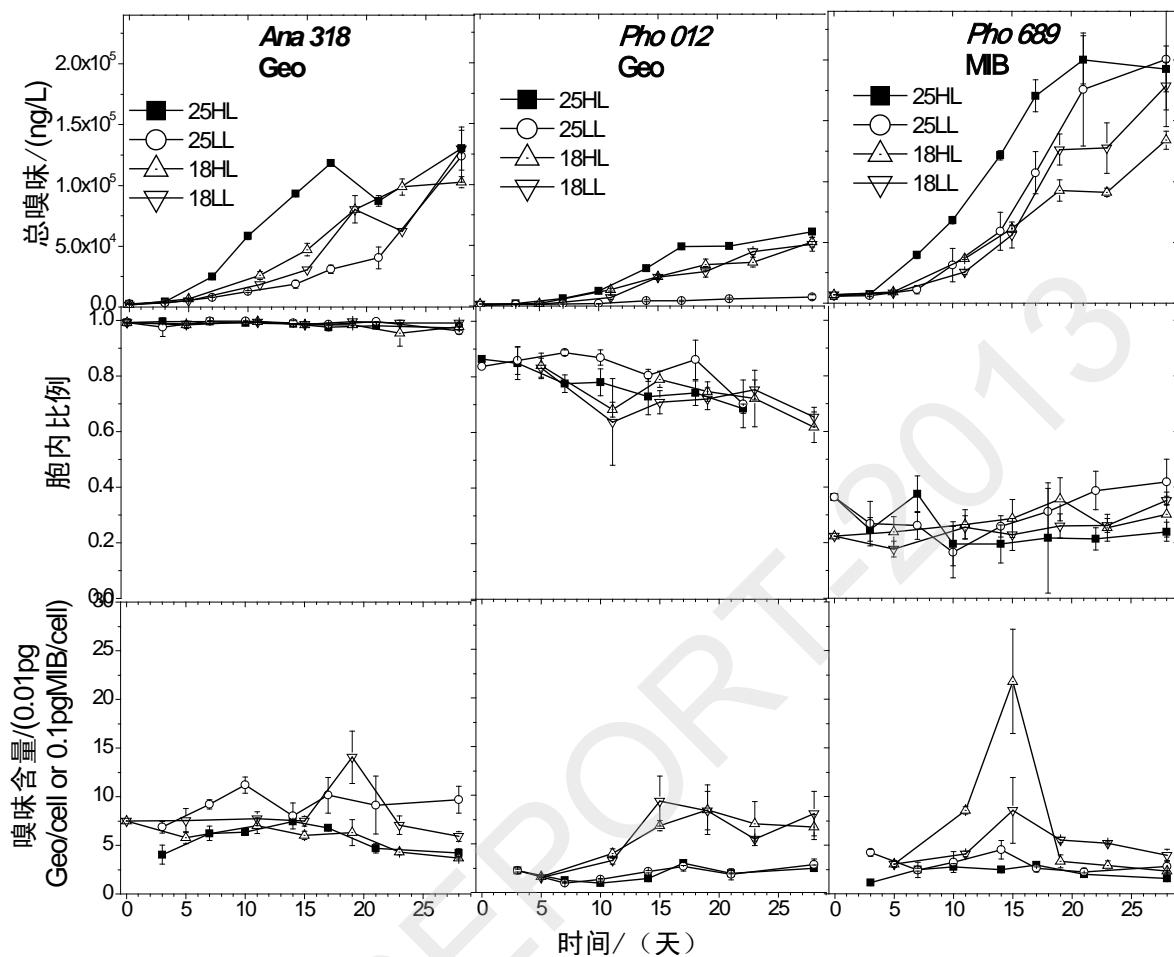


图 2.8 嗅味产生曲线

2.2.9 嗅味原位损失

在湖泊水库中，嗅味物质的损失包括挥发，光降解，被有机物沉积物等吸附，微生物降解，水流输出带走等途径。而在实验室藻培养体系中，只需考虑挥发和原位生物降解。

2.2.9.1 挥发散失

封闭体系的挥发性物质的散失符合亨利定律，但对于藻培养的开放体系，挥发散失不能直接从亨利定律计算得到，培养瓶中空气中的嗅味物质会持续透过瓶盖进入瓶外，气体的交换速度取决于温度、气流情况、瓶盖的类型和震荡强度等。25°C两初始浓度和 18°C一个初始浓度的挥发散失曲线见图 2.9，一级反应动力学拟合参数见表 2.1。

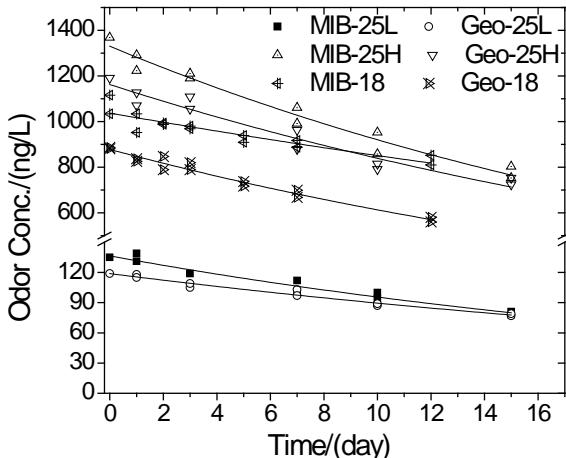


图 2.9 Geosmin/MIB 挥发散失曲线

表 2.1 挥发散失一级反应动力学拟合参数

方程: $C=A \times \exp(K_v t)$ C: Geosmin/MIB 浓度(ng/L); t:时间(天)							
	A		K_v		N	R^2	$t_{1/2}$
	值	标准偏差	值	标准偏差			
MIB25H	1330.2	21.2	-0.03684	0.00241	11	0.963	18.8
MIB25L	136.4	2.3	-0.03563	0.00253	11	0.957	19.5
MIB18	1037.3	14.0	-0.01979	0.00262	14	0.821	35.0
Geo25H	1162.3	21.5	-0.03258	0.00272	11	0.940	21.3
Geo25L	118.9	1.4	-0.02832	0.00166	11	0.969	24.5
Geo18	878.3	8.2	-0.03408	0.00284	14	0.925	20.3

注: 25H- 25°C高初始浓度; 25L- 25°C低初始浓度, 其他类推

嗅味物质挥发散失也包括了极少量的瓶体吸附, 对照试验表明 25°C 时有 0.7 ng/L/天的 MIB 和 1.8 ng/L/天的 geosmin 被吸附, 此吸附相对于几百到几万 ng/L 的挥发散失可以忽略。拟合的相关性很好说明其挥发符合准一级反应动力学, 挥发散失速率与初始浓度无关。MIB 在 25°C 时的挥发速度大于 18°C, 但 geosmin 两者的差异不明显。挥发散失的半衰期介于 18.8~30.5 天之间, 这表明若考察嗅味物质的产生时, 有必要考虑挥发散失。值得注意的是, 此挥发速度只能用于本研究, 而不能直接用于其他实验体系, 只能提供参考。

2.2.10 原位生物降解

原位生物降解曲线见图 2.10, 可以发现 MIB 都没有发生降解, *Ana318* 和 *Pho 012* 体系可能是因为其 MIB 产量很低, 缺乏能降解 MIB 的细菌, 而 *Pho689* 体系则也有可能是因为其初始浓度太高使得降解不能进行。

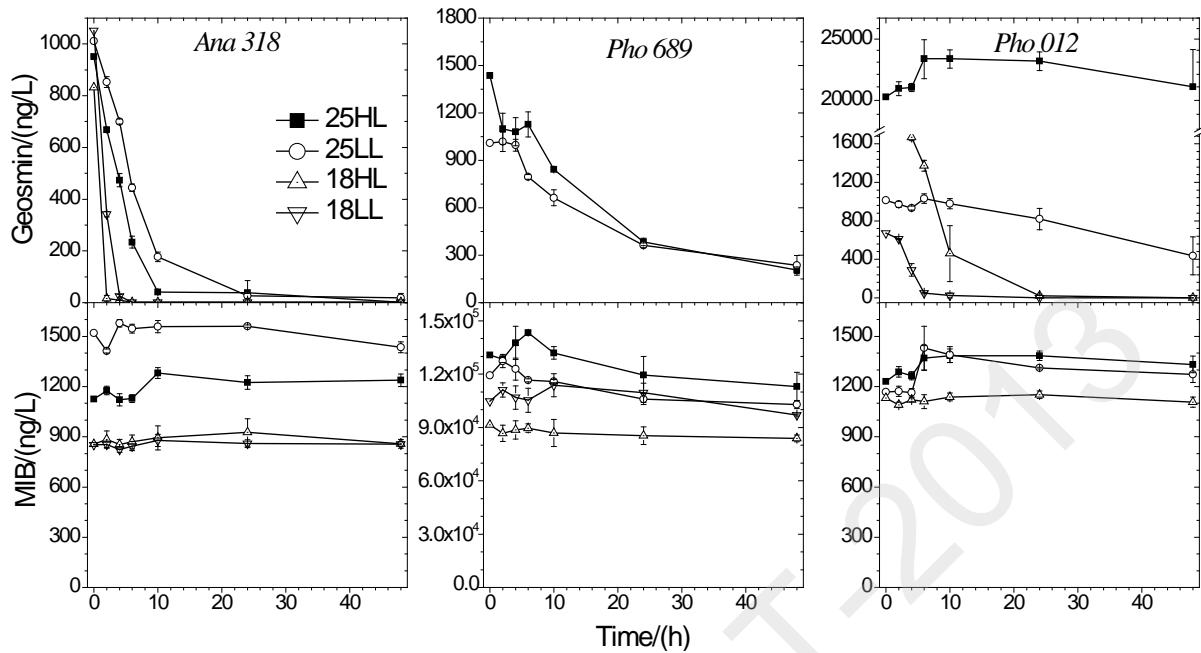


图 2.10 原位生物降解曲线

Ana 318 体系的 geosmin 都能在几个小时内降解殆尽, *Pho 689* 系列的 geosmin 和 *Pho012* 体系除 25HL 系列外都能较快的降解, *Pho 012* 的 25HL 系列可能是因为培养末期时藻细胞进入衰亡期, 部分 geosmin 释放, 导致其原位降解体系的 geosmin 初始浓度太高而使得降解受到抑制。Geosmin 原位生物降解的一级反应动力学的参数拟合见表 2.2 所示, 半衰期最短为 *Ana 318* 18HL 系列, 只有 0.4 小时, 大多数半衰期都小于 24 小时, 这就意味着胞外的 geosmin 能很快被原位生物降解, 原位细菌由于长期的驯化获得了强大的 geosmin 降解能力, *Ana 318* 的很低浓度的胞外 geosmin 浓度可能不是因为其产生的 geosmin 不能分泌到细胞外, 而是因为其分泌到胞外的 geosmin 很快被原位生物降解所致。不同蓝藻培养体系的降解速率有差异, 这是因为不同的藻培养体系中的原位细菌种属有差异。且原位细菌的密度和藻的生理状态有关, 如 *Ana318* 体系的原位降解速率和第 28 天的细胞群体健康状态正相关, 细胞群体健康的蓝藻其共生或附着的细菌活性高。

表 2.2 Geosmin 降解动力学拟合参数

方程: $C=A \times \exp(K_b t)$ C: Geosmin/MIB 浓度(ng/L); t:时间(h)								
蓝藻	系列	A 值	K _b 值	N	R ²	t _{1/2}		
		标准偏差	标准偏差					
<i>Ana 318</i>	25HL	1013	44.4	-0.223	0.015	17	0.968	3.1
	25LL	1122	42.2	-0.149	0.010	19	0.974	4.7
	18HL	831	7.5	-1.954	0.130	10	0.999	0.4
	18LL	1069	46.8	-0.632	0.043	10	0.980	1.1
<i>Pho 012</i>	25HL	24600	1055	-0.0032	0.0015	10	0.288	216.6

	25LL	1009	43.0	-0.016	0.003	12	0.828	43.3
	18HL	2166	164	-0.106	0.017	18	0.890	6.5
	18LL	828.6	89.8	-0.270	0.044	14	0.852	2.6
<i>Pho 689</i>	25HL	1282	40.7	-0.045	0.004	16	0.957	15.4
	25LL	1008	32.2	-0.038	0.003	15	0.956	18.2

2.2.11 分子生物分析

选择对数增长期的蓝藻培养体系，提取 DNA 进行细菌 16s RNA 基因片段的 DGGE 结果见图 2.11 所示。明显发现每个泳道中均有多条带，这明确表明三株蓝藻体系都有含有细菌，加之 DGGE 不可能表征所有的细菌，其实际包含的细菌种属肯定大于 DGGE 条带类型。为得到每个条带所代表的细菌或蓝藻种属，对典型条带进行了测序比对，其和参考序列的系统进化发育关系见 **Error!**

Reference source not found.

A 和 J 条带分别代表席藻和鱼腥藻的 16s rDNA 基因。D 条带代表假单胞菌，只在席藻中出现，一些研者已经报道假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.) 可以降解 MIB 和 geosmin，在湖水^[151]、生物活性炭^[152]、土壤^[153]、砂滤层的沙子^[153]中都发现了可降解 MIB 或 geosmin 的假单胞菌存在。氢噬胞菌 (*Hydrogenophaga* sp.) 和鞘胺醇单胞菌属 (*Sphingomonas* sp.) 在席藻和鱼腥藻体系中都有发现，其对应的条带为 C 和 B (K)。Ho 等人从水厂砂滤层中分离出了 *Sphingomonas* sp. 发现它能降解 MIB 和 geosmin^[154]。条带 H、和 L 分别代表短波单胞菌 (*Brevundimonas* sp.) 和生丝微菌 (*Hyphomicrobiaceae*) 只在鱼腥藻中发现。条带 E 和 G 分别代表伯克氏菌 (*Limnobacter* sp.) 和根瘤菌 (*Rhizobium* sp.) 在席藻和鱼腥藻体系中都出现，但不是每个样品都有明显条带。

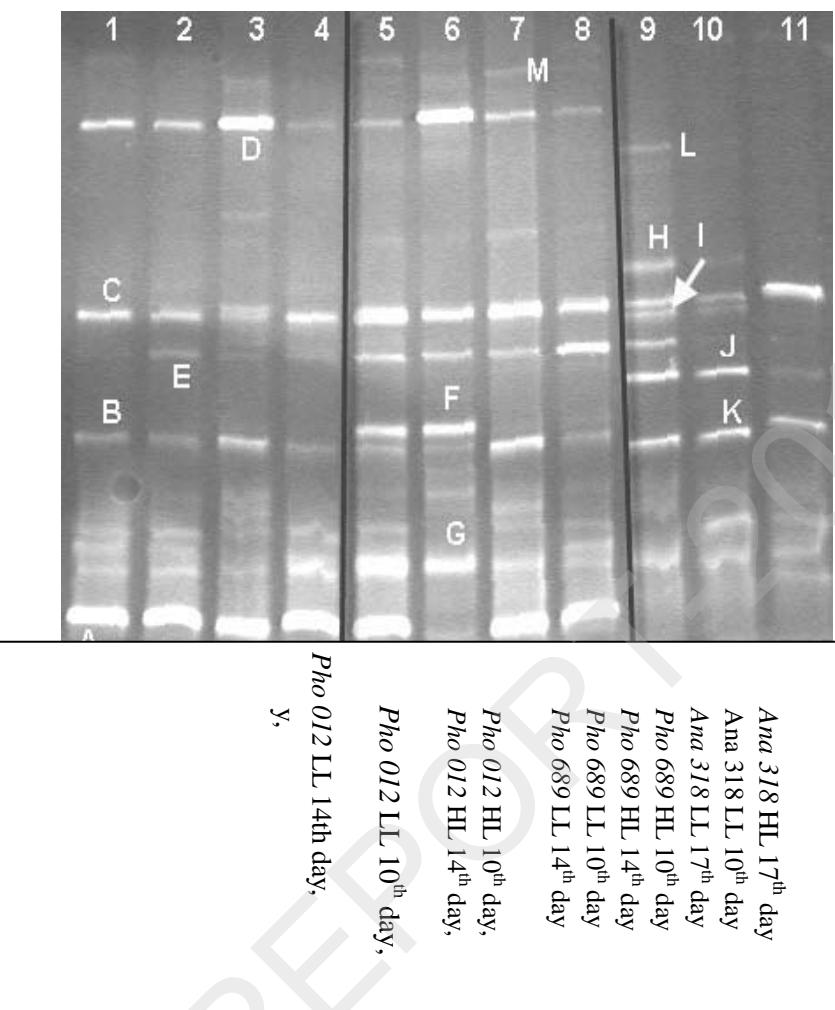


图 2.11 三蓝藻培养体系 DGGE 图

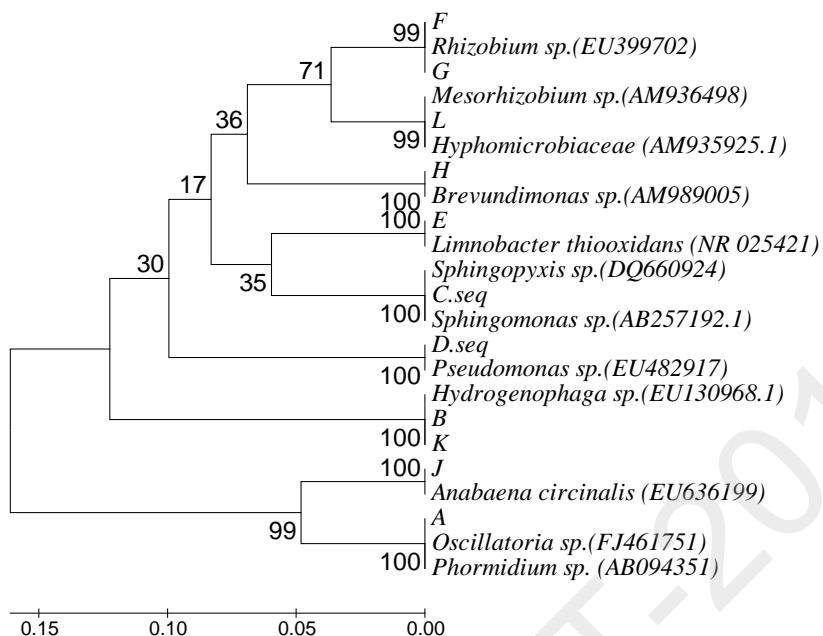


图 2.12 DGGE 典型条带序列和参考序列系统进化关系

DGGE 结果也表明了不同培养条件下其共生和附着的细菌群落结构相似, 两席藻和鱼腥藻共生的细菌群落结构具有明显的差异, 而两席藻间差别很小, 这就意味着与蓝藻共生的细菌种属有一定的蓝藻种属特异性。被报道可能降解 gesomin/MIB 的细菌 *Sphingomonas* sp. 和 *Pseudomonas* sp. 的确存在解释了原位生物降解实验中 geosmin 的快速降解, 也说明这些细菌由于长期利用 geosmin 而被驯化, 其降解能力已经非常强, 当然, 不排除已经发现的其他细菌或没有被 DGGE 所表征的细菌也能降解 geosmin。由此推测, 若想得到 geosmin/ MIB 的高效降解菌用于嗅味去除, 从高产 geosmin/MIB 的对数增长前期的蓝藻培养体系中分离是比较可行的捷径。

2.2.12 嗅味产生机制

细胞的增长在对数增长前期一般和叶绿素增长保持同步, 在对数增长后期虽然细胞数仍能缓慢增长, 但叶绿素含量下降, 总的叶绿素浓度也下降, 蓝藻群体颜色和形态发生变化, 一般变淡变黄, 群体松散出现部分细胞死亡。低光照时, 蓝藻为适应环境而合成更多的叶绿素, 类似在低温时, 也发现叶绿素含量也有一些上升, Kirk 曾在 1983 年对该现象进行了解释, 色素的合成能随环境条件而调整, 光强减少合成, 光弱则增加合成^[155]。

有趣的是, 每种蓝藻的不同培养条件时的最大嗅味物质产量都很接近, 这说明其可能由培养基所能提供的营养所决定。两种席藻低温时的嗅味物质含量明显高于高温, 对数增长中期的值高于其他时期, 叶绿素也有类似的现象, 可当叶绿素出现下降时, 嗅味物质没有跟随着下降。这说明了席

藻更适宜于较低温度环境，嗅味物质能在细胞内进行积累，虽然其合成速率下降但总量仍有一定上升。Richard 曾报道 MIB 可能结合在蓝藻色素合成系统中^[156]。

鱼腥藻培养体系的 geosmin 原位降解半衰期 0.4 – 4.7 h 与 Ho 报道的接种从水厂砂滤池生物膜上的微生物进行 geosmin 批量降解实验的半衰期 2.4 h -13.9 h 相仿^[160]，这说明 geosmin 的快速降解是可能出现的，这也就说明了洋河水库 7,000 ng/L 的 geosmin 两天内降低到 1,000 ng/L 左右很可能是生物降解所致，其对应的半衰期只在 16 h 左右。虽然对于水库这种完全开放体系挥发散失可能会快于本实验体系，但其半衰期至少也是几天，因此可基本认定洋河水库水华衰退期 geosmin 的快速消失是因为水体中或与鱼腥藻/微囊藻共生（附着）的细菌中含有能降解 geosmin 的微生物快速降解了的缘故，在分子生物分析中也发现了假单胞菌科的一些细菌存在。密云 9、10 月份潮河库区高浓度的 geo 基因和很低的 geomsin 的现象也可能是因为表层水体颤藻席藻密度较低，其胞外的 MIB 不易降解而积累，但 geosmin 能快速降解，因而出现了较高浓度的 MIB 而 geosmin 浓度很低的现象。

虽然挥发和原位降解速率可以通过类似本实验的参照实验得到，但还是不能得到蓝藻的实际嗅味物质产量。这主要是因为原位降解是不可能被准确测定，这些原位细菌附着在蓝藻鞘和周边胶质中，或与蓝藻共生，是不可能完全从蓝藻体系中分离出来，且其活性和蓝藻细胞的生理状态有直接关系。如鱼腥藻 25°C 系列的蓝藻细胞数高，其原位细菌含量应该较高，且在较高温度降解时应表现更快的降解速率，可实际情况却是 18°C 系列的 geosmin 降解速率快于 25°C 系列，且 DGGE 表明原位细菌种属在不同培养条件差异不大，这就很可能是因为 18°C 系列第 28 天时蓝藻细胞群体更年轻，对应原位细菌的活性大于 25°C 系列所致。因此在蓝藻产嗅实验中所测得的细胞外嗅味物质浓度也只是被原位细菌降解后所剩下的量，本实验中 MIB 几乎没有降解，而 geosmin 能快速降解，这也许就是 MIB 大部分为胞外 MIB 的原因。至于 MIB 不易被降解的可能原因：geosmin 为平面分子，容易和酶结合，而 MIB 为立体分子，具有较大的空间位阻，不容易和酶结合，这些需要发现具体的降解酶后才能明确验证。

通过本实验，可以初步总结出一个蓝藻产嗅的一般规律：浮游的蓝藻在较高温度，合适的光照强度下产嗅高；底栖蓝藻在较低温度，较弱光照时产嗅高；嗅味物质的产生和叶绿素合成正相关；较深的蓝藻细胞群体颜色是高叶绿素含量所致，其有助于较少对光照的需求；geosmin 的胞内比例远大于 MIB 可能是胞外 geosmin 被原位细菌快速降解无积累所致；蓝藻的细胞群体形态影响蓝藻的生长，类似藻膜的紧密团块形成阻碍细胞的增长，但不一定影响嗅味的产生。挥发和降解对嗅味原位损失的贡献差异大，挥发一般不能导致 MIB/geosmin 的大量损失，蓝藻培养体系和湖库天然水体中存在多种能降解 geosmin 的细菌，geosmin 可能被快速降解从而导致 geosmin 的快速消失，而 MIB

很难被生物降解。

2.2.13 小结

本章系统研究了温度和光照对三种蓝藻生长和产嗅的影响，特别是对影响胞外嗅味的三个因素进行了评估。结果表明这些影响具有种属特异性，该特异性和蓝藻的生态类型、形态特征和生理状态有关。

浮游的鱼腥藻在 25°C 产嗅多，而两底栖席藻在 18°C 产嗅多，嗅味物质含量在低光照时较高是因为有更多的叶绿素合成。嗅味的产生和叶绿素合成正相关，但嗅味物质的浓度增加主要是因为细胞密度的上升。*Ana 318* 和 *Pho 012* 的胞内 geosmin 含量远高于 *Pho 689* 的 MIB 胞内含量，且有随着细胞群体老化降低的趋势。两席藻形成不同形态的细胞群体团块，不同程度的影响光线穿透，而对细胞增长和产嗅产生不同的影响。平均嗅味物质含量比较稳定，但在对数增长中期会出现高峰值。塑料细胞培养瓶对 geosmin/MIB 的吸附可以忽略，挥发散失符合一级动力学，半衰期介于 18.8~35 天之间。

DGGE 分析表明蓝藻体系都包含有多种细菌，细菌的种属结构与蓝藻种属有关，发现的原位细菌主要包括 *Hydrogenophaga* sp., *Sphingomonas* sp., *Brevundimonas* sp., 和 *Hyphomicrobiaceae* 等，这些细菌可能是 geosmin 的快速降解者，MIB 没降解可能是缺乏降解 MIB 的细菌或 MIB 初始浓度太高抑制。geosmin 降解也符合一级动力学，其半衰期介于 0.4~43.3 h 之间，最高的降解速率出现在 *Ana318 18LL* 系列，降解速率主要取决于原位细菌的活性，生物降解能导致嗅味物质的快速消失。

本研究表明要评价蓝藻的实际产嗅量是很难做到的，难点不是培养条件控制、细胞计数、嗅味分析、吸附和挥发损失等因素，而是如何评估嗅味物质的原位生物降解。

2.3 微宇宙方法模拟 2 种水华发生特征

湖泊中研究浮游植物生长规律通常有两种方法：野外观测和实验室小型生物学培养。由于天然体系的复杂性，野外观测往往很难得到可靠的结果，而实验室小型生物学培养实验又将天然体系过于简单化，难以用于天然体系的研究。微宇宙方法是介于两种之间的一种模拟的方法，它是一个相对隔离的系统，通常在深度尺度上具备天然湖泊的尺度。可以模拟光照，水温分层，水体扰动，水体组成等野外易于变化的因素，而且具备高温灭菌等优点，应用微宇宙系统能较好地模拟浅水湖泊中藻类的生长特征。

本项目采用微宇宙系统进行模拟，并结合实验室生物学培养实验对微囊藻和鱼腥藻竞争生长和浮力变化规律进行研究，主要研究方法和内容：

2.3.1 氮、磷、温度对微囊藻和鱼腥藻生长的影响

温度的季节性交替变化是影响浮游植物季节性周期变化的因素之一，研究不同温度对鱼腥藻和微囊藻生长的影响，探讨温度对优势水华藻类鱼腥藻和微囊藻演替的影响；结合鱼腥藻和微囊藻自身生理特性研究不同形态 N 和不同浓度 N 对固氮蓝藻和非固氮蓝藻的生长影响。

2.3.2 底泥对微囊藻和鱼腥藻生长的影响

湖泊和水库水体中营养物质的形态和组成往往受到底泥释放的氮、磷、有机质等影响，采用不同氧化条件下的水库底泥浸出液培养洋河水库微囊藻和鱼腥藻，研究好氧底泥浸出液和厌氧底泥浸出液对微囊藻和鱼腥藻生长的影响。

2.3.3 氮限制和磷限制对微囊藻和鱼腥藻浮力调节机制的影响研究

蓝藻具有的浮力可以使蓝藻打破水体中光和影响的分层，在资源竞争中形成优势，并成为水华暴发的关键因素之一。采用批量培养的方法，在氮限制 (M_{11} 培养基，氮降低至 1/10) 和磷限制 (M_{11} 培养基，磷降低至 1/10) 条件下培养鱼腥藻和微囊藻，在 1 MPa 压力下使蓝藻伪空胞破裂，再分别在氮限制 (M_{11} 培养基，无氮)、磷限制 (M_{11} 培养基，无磷) 以及氮磷充分 ((M_{11} 培养基)) 的条件下培养。研究鱼腥藻和微囊藻的伪空胞含量，迁移速率和漂浮百分率，探讨 N、P 限制对不同蓝藻浮力调节机制的影响。

2.3.4 微宇宙系统模拟研究螺旋鱼腥藻和微囊藻水华发生及变化特征

在洋河水库采集微囊藻和鱼腥藻加入室内微宇宙系统中培养，模拟水华的发生特征。人工湖槽中以自来水（水源来自密云水库）调节氮磷后进行培养，氮浓度为 2 mg/L，磷浓度为 0.175 mg/L。室内微宇宙系统由人工湖槽（高 4 m，内径 1 m）、人工太阳、温度控制系统、灭菌槽、空气供应系统等部分组成（图 2.13）。模拟水库在弱分层条件下（在水深 0.7 m 处通入空气使表层水体保持 2-5 cm/s 的扰动、表层温度($28 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$)、底层温度($25 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$)）和不分层（在水深 3.5 m 处曝气，水温($25 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$)）、光强（表层光照强度为 50000 lux）、光照时间（光暗比为 12 h: 12 h），研究螺旋鱼腥藻和微囊藻的生长、垂向分布及浮力变化特征。

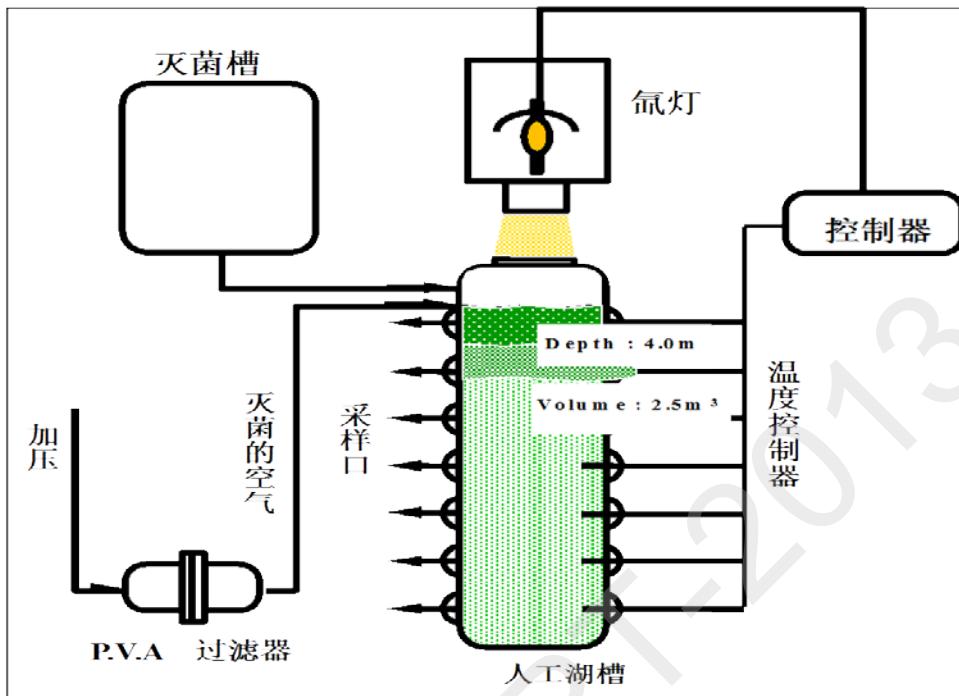


图 2.13 室内模拟装置图

2.4 产嗅藻和产毒藻之间竞争生长规律

2.4.1 不同培养条件对螺旋鱼腥藻和微囊藻生长的影响

2.4.1.1 不同温度对螺旋鱼腥藻和微囊藻生长的影响

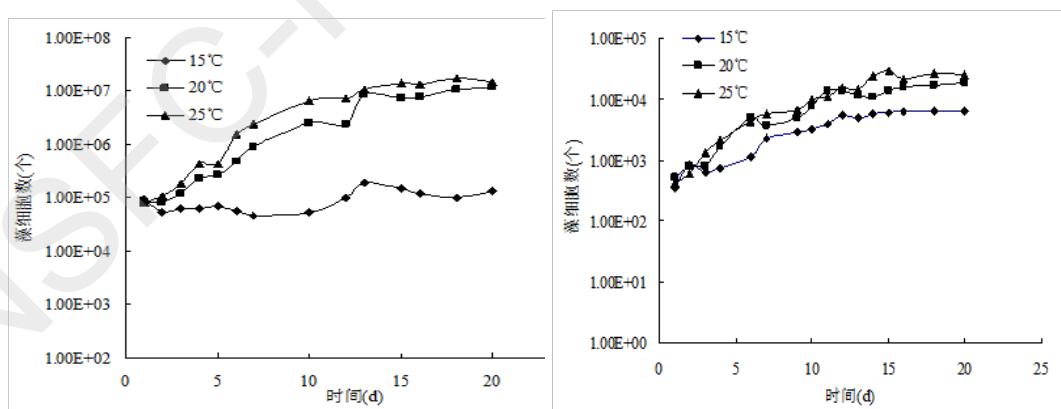


图 2.14 不同温度条件下微囊藻和螺旋鱼腥藻的生长曲线

螺旋鱼腥藻和微囊藻在不同温度下在 M₁₁ 培养基中的生长如图 2.14 所示：微囊藻在 20°C 以上生长良好，在 15°C 基本不生长；而鱼腥藻在 15°C 以上均生长良好。螺旋鱼腥藻在 15°C、20°C、25°C 条件下，生长速率分别为 0.296、0.387、0.400 d⁻¹（图 2.15），而微囊藻生长速率分别为

0.004、0.384、0.425 d^{-1} ；随着温度的升高，两种藻生长速率均增大，但微囊藻增大得更快。在低温下(15℃)，螺旋鱼腥藻的生长速率远大于微囊藻，而在高温下微囊藻(25℃)生长速率大于鱼腥藻。因此在低温条件下，富营养化湖泊中螺旋鱼腥藻易成为优势藻种；而在高温条件下，微囊藻容易成为优势种。温度对2种藻影响不同，意味着在2种水华蓝藻在不同季节发生演替。

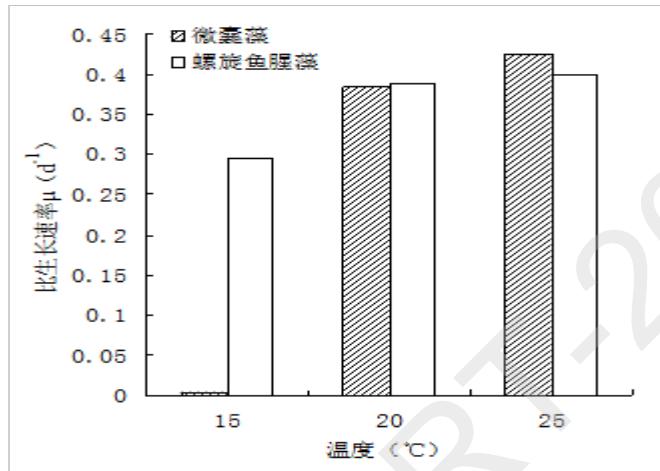


图 2.15 不同温度条件下螺旋鱼腥藻和微囊藻比生长速率对比

2.4.1.2 不同形态氮对螺旋鱼腥藻和微囊藻生长的影响

(a) 不同浓度硝氮对螺旋鱼腥藻和微囊藻生长特性的影响

不同硝氮浓度下螺旋鱼腥藻和微囊藻的生长曲线如图 2.16 所示。当硝氮浓度是 0.05、0.5、2、10 mg/L 时，螺旋鱼腥藻的最大生物量(以藻细胞数计)分别为 2.17E+04、1.93E+04、1.47E+04、1.60E+04 cells /mL，不同硝氮浓度下螺旋鱼腥藻的生长曲线无显著性差异($p>0.05$)；不同浓度的硝氮对微囊藻的生长影响较大($p<0.01$)；当硝氮浓度是 0.05、0.5、2、10 mg/L 时，微囊藻的最大生物量(以藻细胞数计)是 2.54E+05、1.36E+06、2.51E+06、4.23E+06 cells /mL，硝氮浓度的升高，能促进微囊藻的生长。

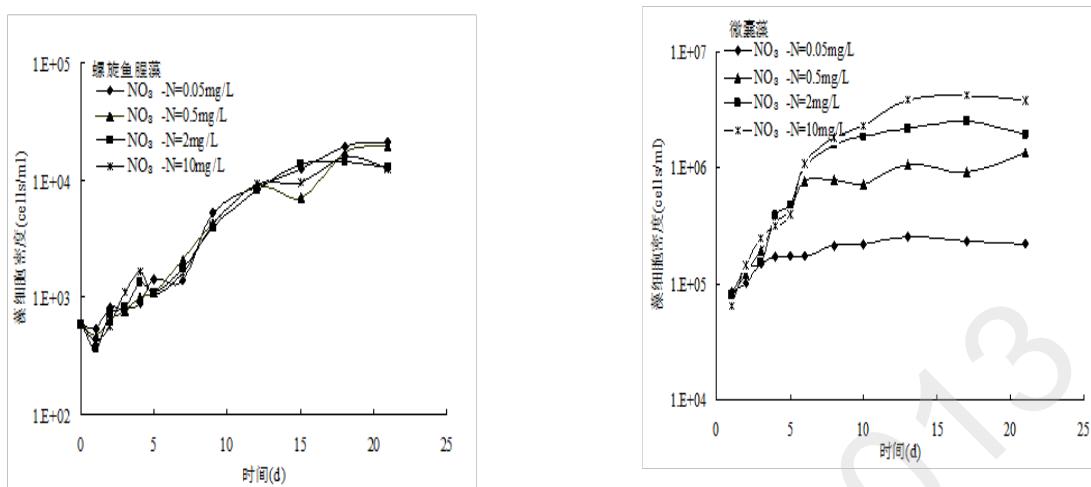


图 2.16 不同硝氮浓度下螺旋鱼腥藻和微囊藻的生长曲线

当硝氮浓度是 0.05、0.5、2、10 mg/L 时，螺旋鱼腥藻的生长速率在 $0.23\text{--}0.25 \text{ d}^{-1}$ 之间（图 2.17），无显著性差异($p>0.05$)。微囊藻的生长速率分别是 0.166 ± 0.008 、 0.376 ± 0.006 、 0.451 ± 0.005 、 $0.466 \pm 0.004 \text{ d}^{-1}$ ，硝氮浓度的增加明显促进了微囊藻的生长($p<0.01$)。当培养基中硝氮浓度为 0.05 mg/L 时，螺旋鱼腥藻的生长速率远大于微囊藻的比生长速率，低硝氮浓度条件下，螺旋鱼腥藻有可能成为优势藻种。

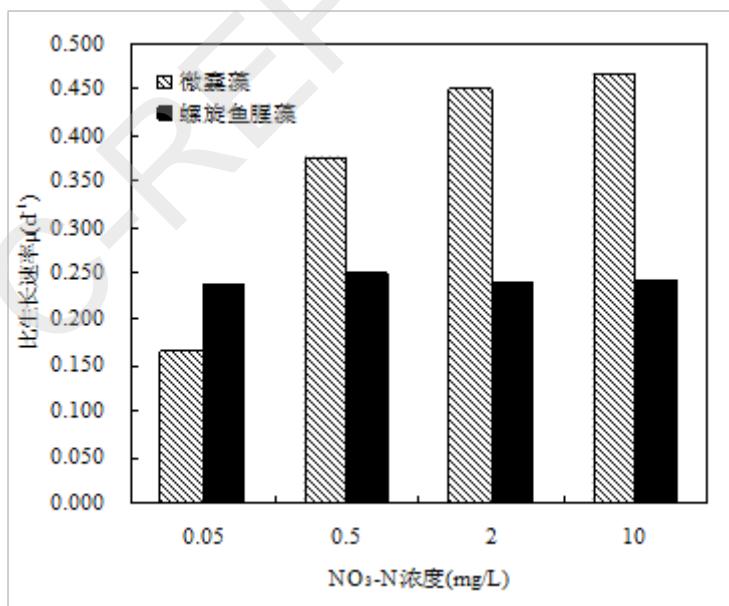


图 2.17 不同硝氮浓度下两种藻的生长速率

(b) 不同浓度氨氮对螺旋鱼腥藻和微囊藻生长特性的影响

不同氨氮浓度下螺旋鱼腥藻和微囊藻的生长曲线如图 2.18 所示。当氨氮浓度是 0.05、0.5、2、10 mg/L 时，螺旋鱼腥藻的最大生物量（以藻细胞数计）是 $2.45\text{E+}04$ 、 $2.15\text{E+}04$ 、

3.54E+04、3.85E+04 cells /mL, 不同氨氮浓度下螺旋鱼腥藻的生长曲线无显著性差异($p>0.05$)。

氨氮浓度对微囊藻的生长影响较大($p<0.01$)；图 2.18 可见，当氨氮浓度是 0.05、0.5、2、10 mg/L 时，微囊藻的最大生物量(以藻细胞数计)是 3.81E+05、1.00E+06、2.40E+06、1.51E+06 cells /mL，在 0.05~2 mg/L 范围内，随着氨氮浓度的增加，微囊藻最大生物量逐步增大，但当氨氮浓度为 10 mg/L 时，最大生物量下降。

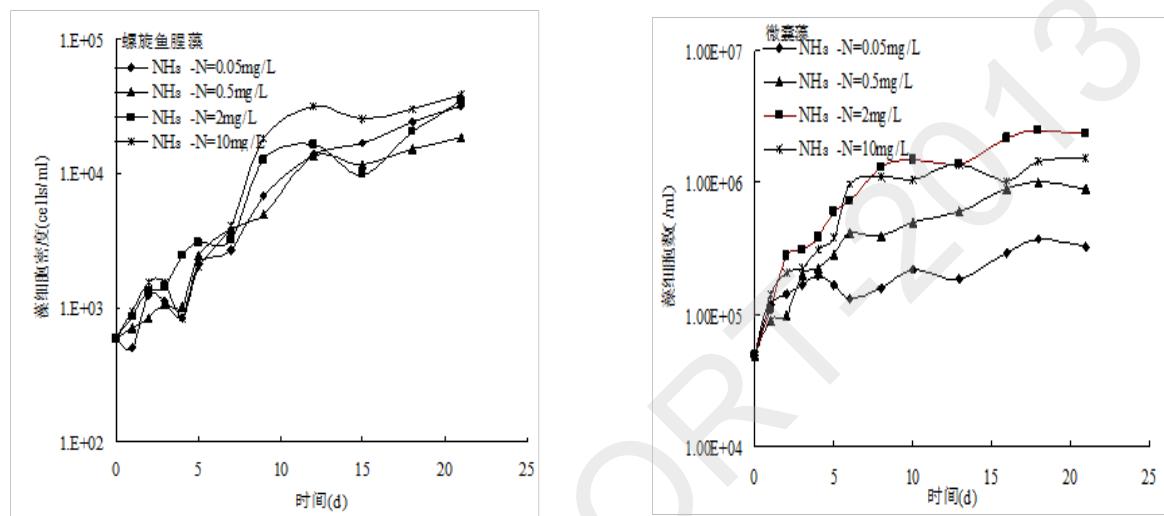


图 2.18 不同氨氮浓度下螺旋鱼腥藻和微囊藻的生长曲线

氨氮浓度是 0.05、0.5、2、10 mg/L 时，螺旋鱼腥藻比生长速率分别为 0.266 ± 0.012 、 0.303 ± 0.005 、 0.300 ± 0.002 、 $0.333 \pm 0.010 \text{ d}^{-1}$ ，微囊藻的比生长速率分别为 0.096 ± 0.004 、 0.272 ± 0.008 、 0.380 ± 0.010 、 $0.364 \pm 0.002 \text{ d}^{-1}$ (图 2.19)。随着氨氮浓度增加，微囊藻生长速率呈增加趋势，当氨氮达到 10 mg/L 时，微囊藻生长速率略有所降低。当氨氮浓度低于 0.5 mg/L 时，螺旋鱼腥藻的比生长速率明显大于微囊藻，低氨氮浓度更利于螺旋鱼腥藻的生长。

水体中氨氮和硝酸盐氮增加均有利于微囊藻形成优势，但氨氮与硝酸盐氮影响程度不同，说明水体中不仅总氮，而且氮形态的变化都有可能使水体中水华优势种发生变化。

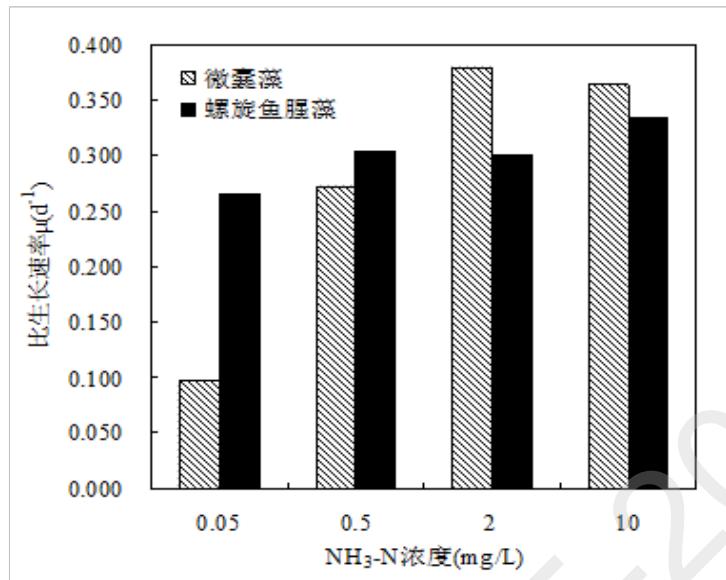


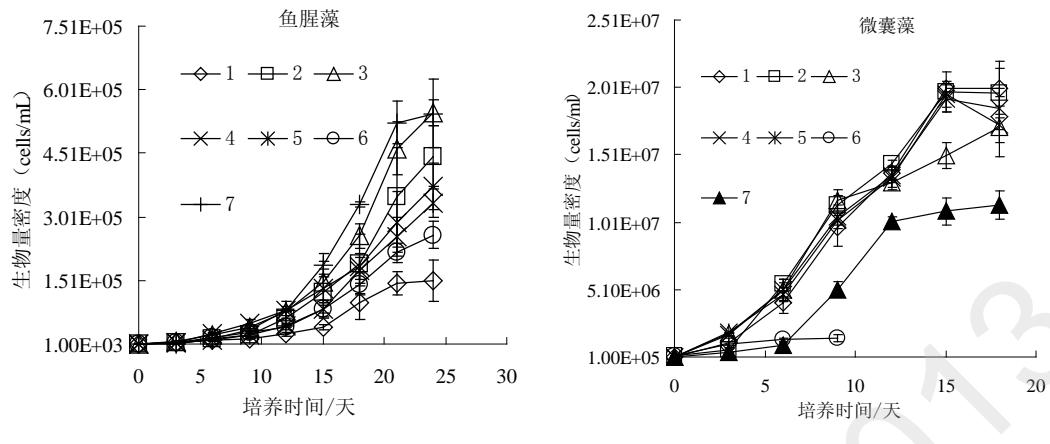
图 2.19 不同氨氮浓度下两种藻的比生长速率

2.4.1.3 好氧底泥浸出液和厌氧底泥浸出液对微囊藻和鱼腥藻生长的影响

在不同氧化环境条件下水库底泥释放的氮、磷、有机质等营养物质的形态和组成存在一定差异，可能对鱼腥藻水华和微囊藻水华的变换有一定影响，因此本实验采用不同氧化条件下的水库底泥浸出液培养洋河水库微囊藻和鱼腥藻，研究好氧底泥浸出液和厌氧底泥浸出液对微囊藻和鱼腥藻生长的影响。

(a) 厌氧底泥浸出液对微囊藻和鱼腥藻生长的影响

厌氧底泥浸出液对微囊藻生长有抑制作用而对鱼腥藻生长有促进作用（图 2.20）。与 M₁₁ 组相比，添加厌氧底泥浸出液组的微囊藻生长受到抑制，且培养基中厌氧底泥浸出液比例越大对微囊藻抑制越明显，最大生物现存量：+2% 厌氧组 > +20% 厌氧组 > +50% 厌氧组；添加厌氧底泥浸出液对鱼腥藻的生长有促进作用，添加 2%，20%，50% 的底泥厌氧浸出液的鱼腥藻生长速率比 M₁₁ 培养基中分别高出 36.6%、47.2%、36.0%，但对最大生物现存量的影响并不显著。



注：1、 M_{11} 培养基，2、 M_{11} 培养基+2%厌氧底泥浸出液，3、 M_{11} 培养基+20%厌氧底泥浸出液，4、 M_{11} 培养基+20%好氧底泥浸出液，5、 M_{11} 培养基+20%厌氧土壤浸出液，6、缺 NP 的 M_{11} 培养基+20%厌氧底泥浸出液，7、 M_{11} 培养基+50%厌氧底泥浸出液

图 2.20 不同培养基中鱼腥藻和微囊藻生长曲线

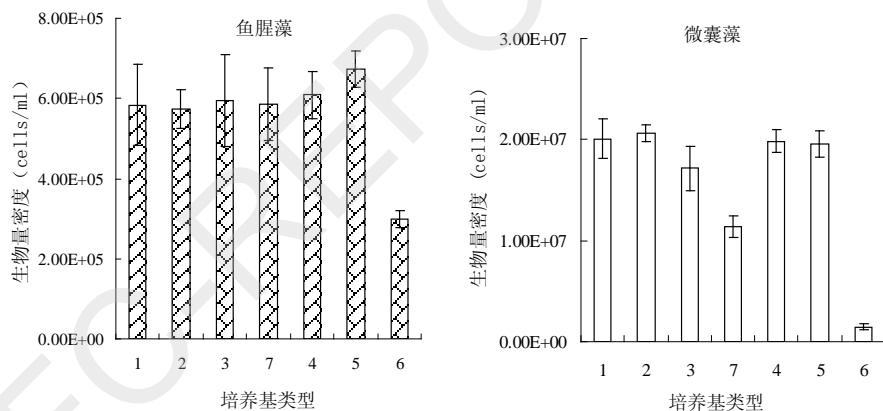


图 2.21 不同培养基中微囊藻和鱼腥藻最大生物量

为了明确限制微囊藻生长的因子，在 50% 厌氧组中分别添加 6 mg/L 的柠檬酸铁和 1 mg/L 的强有机配体 EDTA 培养洋河水库微囊藻，结果如图 2.22。+Fe 组微囊藻生物量高于 50% 厌氧组，而+EDTA 组生物量低于 50% 厌氧组，即 50% 厌氧组中加铁会明显缓解厌氧底泥对微囊藻生长的抑制，而加 EDTA 则会加重这一抑制，这说明了 50% 厌氧组中微囊藻生长受到生物可利用铁的抑制。

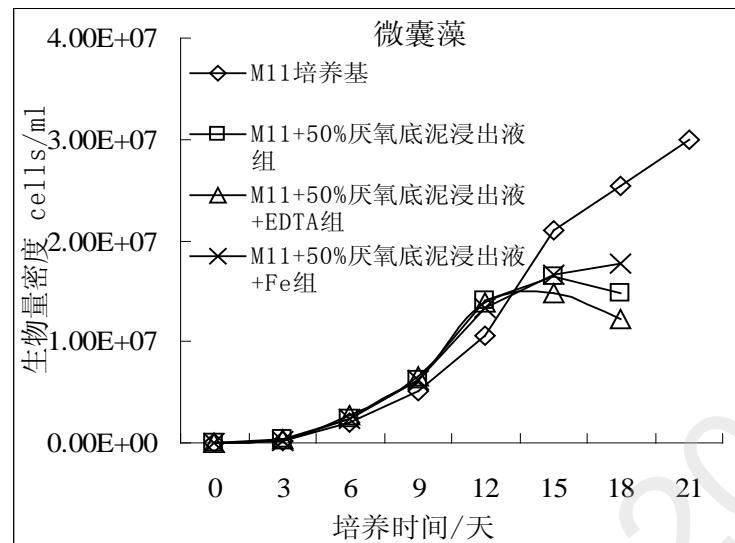


图 2.22 添加 Fe 对微囊藻生长特征的影响

(b) 好氧底泥浸出液和厌氧土壤浸出液对微囊藻和鱼腥藻生长的影响

添加好氧底泥浸出液对微囊藻的生长影响不明显，但对鱼腥藻的生长速率有促进作用；添加普通土壤浸出液对两种藻的生长影响均不明显。对添加好氧底泥浸出液组、厌氧土壤浸出液组和 M₁₁ 组微囊藻进行方差分析，结果显示各处理组间最大生物现存量的方差无显著性差异 ($p=0.83$)，且各处理组生长速率也无显著性差异 ($p=0.70$)，即好氧底泥浸出液和厌氧土壤浸出液对微囊藻生长没有明显影响；添加好氧底泥浸出液对鱼腥藻生长速率有一定的促进作用，而对最大生物量的影响不明显，添加 20% 的好氧底泥浸出液的鱼腥藻生长速率比 M₁₁ 培养基中高出 37.2%，而最大生物量密度仅高出 4.2%；厌氧土壤浸出液对鱼腥藻生长的促进作用不明显，如图 2.23 所示，最大生物量和生长速率与 M₁₁ 培养基相比均相差较小。

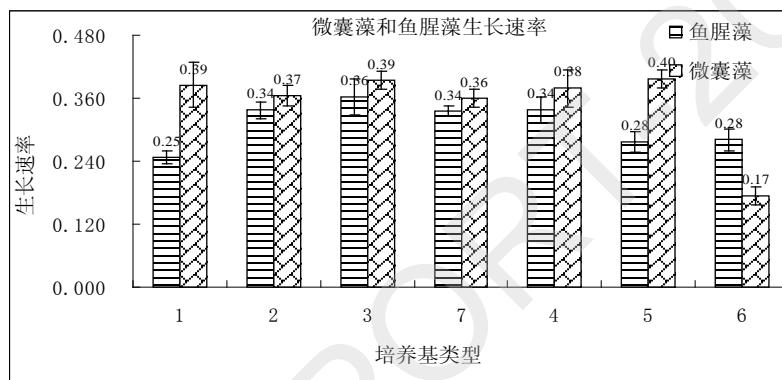


图 2.23 对数生长期鱼腥藻和微囊藻生长速率（培养基类型同图 2.20）

在好氧条件下，对底泥进行 7 昼夜曝气处理后浸出液中 COD_{Cr} 仅为 43.78 mg/L，而普通土壤厌氧浸出液中 COD_{Cr} 也很低 (35.20 mg/L)。从实验结果来看，培养基中存在的少量有机质对微囊藻生长没有产生抑制作用，而浸出液中的有机质或其他物质对鱼腥藻生长有一定的促进作用。

2.4.1.4 小结

螺旋鱼腥藻和微囊藻是两种常见的水华藻类，虽然这两种藻类都属于蓝藻门，二者的生理特性却不尽相同。螺旋鱼腥藻是固氮蓝藻，具有产异味物质的特性；微囊藻属于色球藻目，微囊藻毒素 (MC) 是藻毒素中最常见的一种。研究不同培养条件对螺旋鱼腥藻和微囊藻的生长影响，探讨二者之间的竞争生长规律，有利于分析湖泊水华藻种演替的影响因子。

在不同温度条件下 (15℃、20℃、25℃)，螺旋鱼腥藻的生长状况良好，随温度的升高，比生长速率呈增加的趋势；微囊藻则在 20℃ 和 25℃ 条件下生长旺盛，在 15℃ 条件下生长缓慢，在培养后期出现衰退趋势；特别在 15℃ 条件下螺旋鱼腥藻的比生长速率远大于微囊藻。螺旋鱼腥藻和微囊藻表现出不同的适宜生长温度范围，较高温度条件 (20~25℃) 更利于微囊藻的生长，在低温条件下，螺旋鱼腥藻易成为优势藻种。这与湖泊中螺旋鱼腥藻水华大都发生在春末、夏初和初秋季节，在夏季水温较高的阶段优势藻种往往演变为微囊藻的现象相符。

通过对比研究，不同硝氮和氨氮浓度对螺旋鱼腥藻的生长影响不明显；而 2 种形态的氮随浓度

增加均能促进微囊藻的生长。当培养基中硝氮浓度为 0.05 mg/L 和氨氮浓度低于 0.5 mg/L 时，螺旋鱼腥藻的生长速率远大于微囊藻的比生长速率，表明低硝氮浓度和低氨氮浓度条件都更利于螺旋鱼腥藻的生长，螺旋鱼腥藻在低氮浓度条件下有可能成为优势藻种。由于相同浓度的氨氮和硝氮对两种藻生长速率的影响存在差异，因此可以推测两种形态氮的比例变化有可能导致优势藻种发生变化。

洋河水库厌氧底泥浸出液和好氧底泥浸出液对鱼腥藻的生长速率有促进作用。洋河水库底泥厌氧浸出液对微囊藻的生长有限制作用，这一限制作用可能是在厌氧条件下，底泥中释放出较高浓度的有机质，有机质与铁的结合影响了微囊藻对铁的利用。

2.4.2 氮限制和磷限制条件对鱼腥藻和微囊藻浮力调节机制的影响

2.4.2.1 (1) 氮限制和磷限制条件对螺旋鱼腥藻浮力调节机制影响

(a) 在氮限制条件下螺旋鱼腥藻细胞密度、伪空胞含量、迁移速率和漂浮百分率的变化

伪空胞在压力作用下破裂后，在氮限制条件下螺旋鱼腥藻伪空胞含量在培养期持续增加，并在培养 5.3 天恢复至初始值，恢复到初始值的时间长于氮磷充分的对照组（4.6 天）。但在整个培养期，其细胞内伪空胞含量一直略低于对照组。

螺旋鱼腥藻迁移速率包括沉降速率（负值）和上浮速率（正值）。两种培养条件下，螺旋鱼腥藻都从第 2 天开始出现上浮速率；培养前 3 天，氮限制条件下的沉降速率一直略大于对照组，上浮速率略小于对照组，在第 6 天，两种培养条件下的迁移速率相同，都为 0.96 m/d。

对照组螺旋鱼腥藻漂浮百分率在培养的第一天就达到 21%，第 4 天时达到 100%；在氮限制条件下培养的螺旋鱼腥藻漂浮百分率在第 6 天达到 100%。

将氮限制条件与氮磷充分条件下鱼腥藻细胞内伪空胞含量、迁移速率以及漂浮百分率变化进行对比，结果均表明氮限制对其浮力有影响，但影响较小。

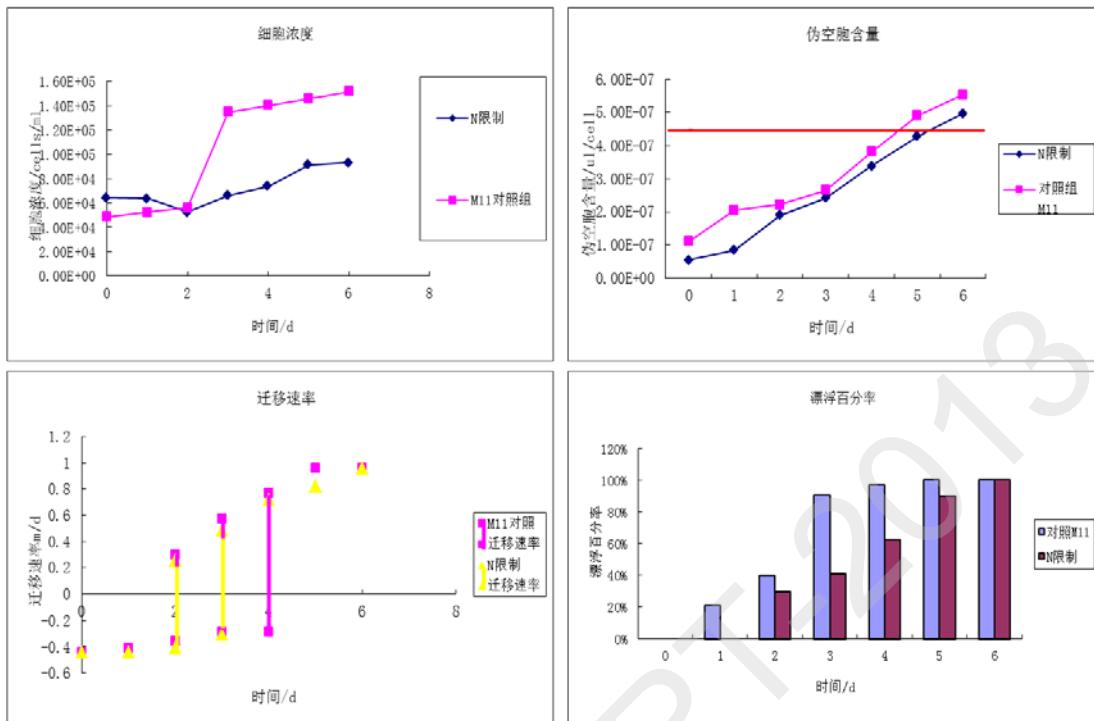


图 2.24 在氮限制条件下螺旋鱼腥藻细胞密度、伪空胞含量、迁移速率和漂浮百分率的变化

(b) 在磷限制条件下螺旋鱼腥藻细胞密度、伪空胞含量、迁移速率和漂浮百分率的变化

在磷限制条件下，螺旋鱼腥藻的细胞密度低于对照组培养条件下的细胞密度。在初始培养密度相同的情况下，培养 5 天后磷限制条件下的细胞密度增加了 2 倍，对照组培养条件下细胞密度增加了 3 倍。

对照组培养的螺旋鱼腥藻伪空胞含量在培养期间一直高于磷限制条件下培养的螺旋鱼腥藻伪空胞含量，并在第 4 天恢复到初始值，在磷限制条件下培养的伪空胞含量虽有增加，但至实验结束（5 天）都未能恢复到初始值。

在磷限制条件下，螺旋鱼腥藻的整个培养期间都能测到沉降速率，从第 3 天开始出现上浮速率；对照组从第 2 天开始出现上浮速率，并从第 3 天开始全部为上浮速率。

对照组螺旋鱼腥藻漂浮百分率在培养的第一天就达到 10%，第 4 天时达到 100%；在磷限制条件下培养的螺旋鱼腥藻漂浮百分率在第三天达到最高值 68%，在实验结束的第五天为 57%。

将磷限制条件与氮磷充分条件下鱼腥藻细胞内伪空胞含量、迁移速率以及漂浮百分率变化进行对比，结果均表明磷限制对其浮力有较大影响。

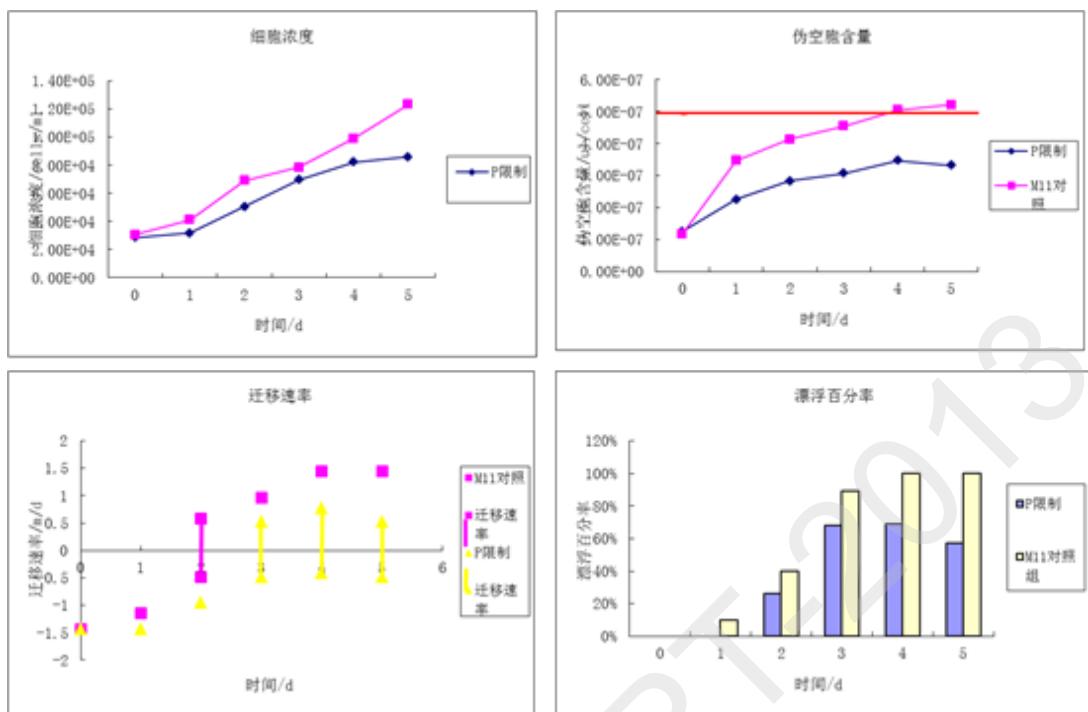


图 2.25 在磷限制条件下螺旋鱼腥藻细胞密度、伪空胞含量、迁移速率和漂浮百分率的变化

2.4.2.2 氮限制和磷限制条件对微铜绿微囊藻浮力调节影响

(a) 在氮限制条件下铜绿微囊藻细胞密度、伪空胞含量、迁移速率和漂浮百分率的变化

铜绿微囊藻的细胞密度在第一天略高于对照组，从 3 天开始远低于对照组。在初始培养密度相近的情况下，培养 4 天后磷限制条件下的细胞密度增加了 87%，对照组培养条件下细胞密度增加了 265%。

在两组培养条件下伪空胞含量都有增加，对照组伪空胞含量在培养期间一直高于磷限制条件下培养的伪空胞含量。对照组在不到 1.5 天时恢复至初始值，氮限制条件下伪空胞含量在第 3 天恢复到初始值。

铜绿微囊藻的迁移速率在氮限制条件下一直为沉降速率 (0.0225 m/d)，未测到上浮速率；对照组的铜绿微囊藻在第 4 天开始出现上浮速率 (0.06 m/d)；

对照组螺旋鱼腥藻漂浮百分率在培养的第一天就达到 21%，第 4 天时达到 100%；在氮限制条件下培养的铜绿微囊藻漂浮百分率一直为 0。

将氮限制条件与氮磷充分条件下微囊藻细胞内伪空胞含量、迁移速率以及漂浮百分率变化进行对比，结果均表明氮限制对其浮力有很大影响，严重制约微囊藻伪空胞的合成与浮力的形成。

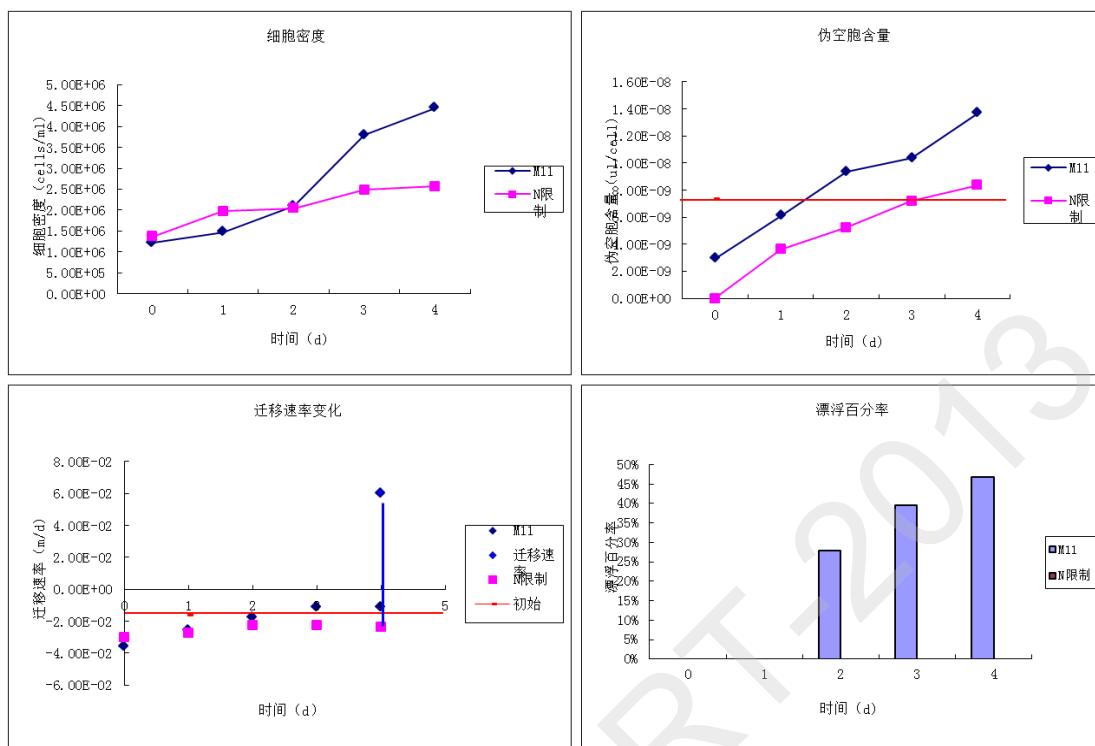


图 2.26 在氮限制条件下铜绿微囊藻细胞密度、伪空胞含量、迁移速率和漂浮百分率的变化

(b) 在磷限制条件下铜绿微囊藻细胞密度、伪空胞含量、迁移速率和漂浮百分率的变化

对照组细胞密度略高于磷限制培养组。在初始培养密度相近的情况下，培养 4 天后磷限制条件下的细胞密度增加了 1.17 倍，对照组培养条件下细胞密度增加了 1.44 倍。

在两组培养条件下伪空胞含量都有增加，但都未恢复到初始值，对照组伪空胞含量恢复较多，在第 4 天伪空胞恢复到初始值的 96%；磷限制条件下伪空胞含量在第 4 天只恢复 34.9%。

铜绿微囊藻的迁移速率在磷限制条件下一直为沉降速率 (0.0225 m/d)，未测到上浮速率；对照组的铜绿微囊藻在第 3 天开始出现上浮速率 (0.036 m/d)；

对照组螺旋鱼腥藻漂浮百分率在培养的第一天仅恢复到 1%，第 3 天时达到最高的 26%；在磷限制条件下培养的铜绿微囊藻漂浮百分率在第 3 天开始有上升，为 11%。

将磷限制条件与氮磷充分条件下微囊藻胞内伪空胞含量、迁移速率以及漂浮百分率变化进行对比，结果均表明磷限制对其浮力有较大影响，但影响低于氮限制条件。

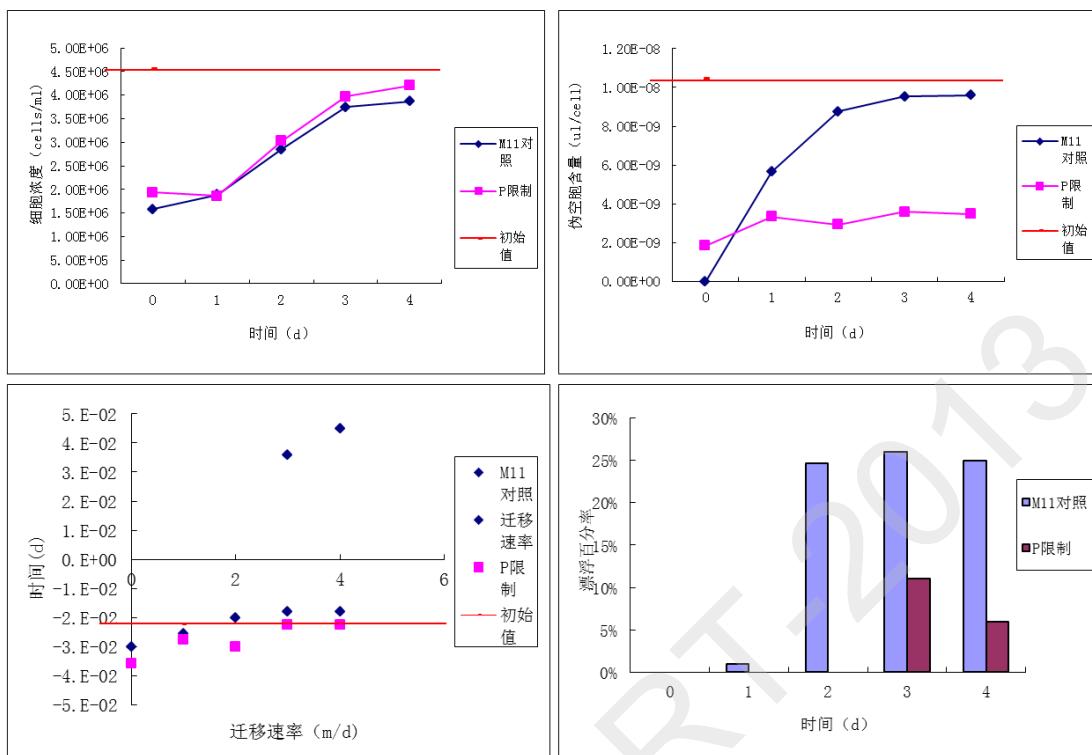


图 2.27 在磷限制条件下铜绿微囊藻细胞密度、伪空胞含量、迁移速率和漂浮百分率的变化

2.4.2.3 小结

在氮限制和磷限制不仅对微囊藻和鱼腥藻生长影响不同，而且，对 2 种藻的浮力调节影响不同。

- 1) 氮限制和磷限制均明显抑制微囊藻的生长，但仅磷限制抑制鱼腥藻生长，氮限制影响较小。
- 2) 在氮限制与磷限制相比，鱼腥藻在氮限制条件下更容易恢复细胞内伪空胞，上浮速率和细胞浮力；氮限制对鱼腥藻浮力的恢复影响较小，而磷限制影响大。而微囊藻则相反，在磷限制条件下更容易恢复细胞内伪空胞，上浮速率和细胞浮力；氮限制和磷限制均有较大的影响。
- 3) 鱼腥藻与微囊藻相比，其在氮限制和磷限制下细胞浮力恢复的不同，这可能是由于鱼腥藻是固氮蓝藻，当其处在缺氮条件下时，鱼腥藻会形成具有固氮作用的异形胞，异形胞可以直接固定大气中的 N₂ (分子态)，形成藻细胞可以利用的氮素化合物，从而使其生长并不受到很大影响。氮不仅影响鱼腥藻和微囊藻的生长，更影响 2 种藻的浮力迁移特征，从而影响 2 种藻对水柱中表层光和底层营养资源的竞争。

2.4.3 运用微宇宙系统模拟研究螺旋鱼腥藻和微囊藻的垂向分布与浮力变化特征

2.4.3.1 温度分层水体中鱼腥藻和微囊藻的昼夜垂向分布

模拟富营养化条件下，天然水库水体弱分层条件（表层水温 28℃，下层 25℃）下水华的发生特征。2 种蓝藻水华发生时分布特征明显不一样。鱼腥藻较微囊藻分布范围大，鱼腥藻在 0~3.5 m 均有分布，在 0~2.5 m 生物量高；微囊藻在 0~2.5 m 范围有分布，在 0~1.5 m 生物量高。随着水深的增加，鱼腥藻和微囊藻在水深分别超过 2.5 m 和 1.5 m 后，生物量快速减少。

昼夜垂向分布表明，在开始光照时，随着光照时间的增加，鱼腥藻在表层 0.5 m 以内生物量快速降低，1.5-2.5 m 生物量持续增加。光照 12 个小时后，在水深 1.5 m 处形成最大生物量，表层生物量降至最低。微囊藻在光照时，主要分布在浅表层 0~1.5 m，随着光照时间的增加，藻细胞也有向下层迁移的趋势，但变化较慢。

光暗条件下，2 种蓝藻的变化趋势与光照相反。随着光暗时间的增加，鱼腥藻和微囊藻逐渐向水体表面聚集，经过一个昼夜周期，基本恢复至 24 小时前的初始状态。

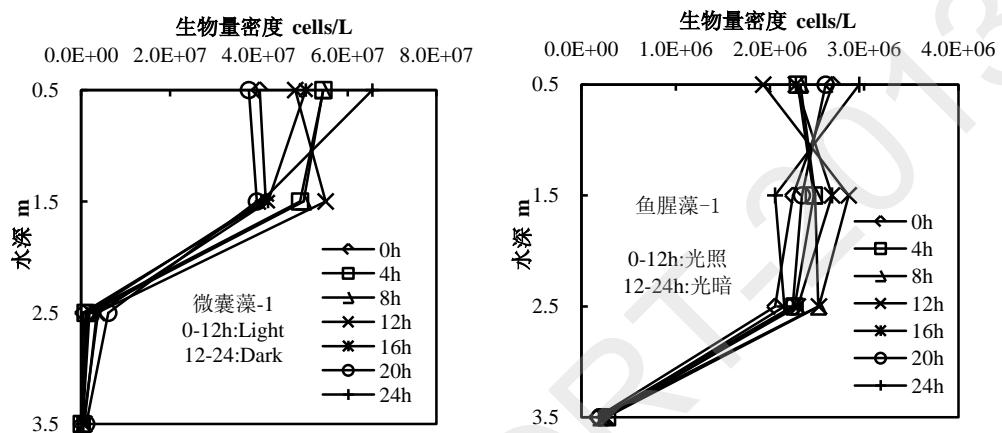


图 2.28 鱼腥藻和微囊藻的昼夜垂向分布 (0-12 h 光照, 12-24 h 无光照)

2.4.3.2 水体混合均匀水体中，2 种蓝藻的垂向变化

模拟风浪对水体混合均匀后（经过 12 个小时的底部曝气），再经历光照、无扰动情景。模拟结果表明，2 种藻在水体混合后在水柱中几乎呈均匀分布。停止曝气混合，2 种藻均有向表层迁移的趋势。停止曝气混合后，鱼腥藻呈现的分布特征与微囊藻差别较大。微囊藻在水柱中总量快速减少，并聚集到水表面形成表面水华，而鱼腥藻在上层水柱中（0~2.5 m）分布，形成的表面水华较轻。

停止曝气混合后，在光照条件下，微囊藻向表层迁移，鱼腥藻主要向表层迁移，但也有部分向底层迁移。光照 4 h 后，水体表层聚集的微囊藻约占整个水柱生物量的 8.0-21.1%，鱼腥藻表层生物量占整个水柱生物量的 2.0-11.3%；随光照时间增长，水柱表层和聚集增加；持续光照 12 个小时后，约 70% 的微囊藻聚集在水体表层，鱼腥藻中比例约 24.6%。

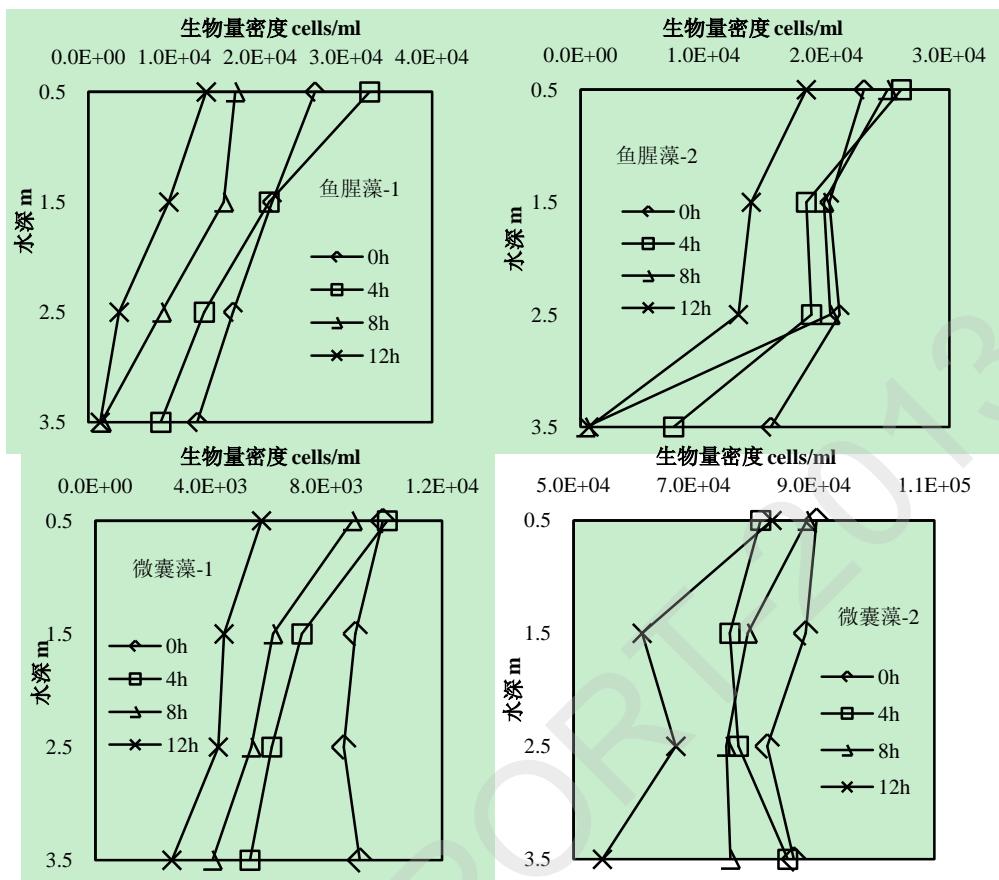


图 2.29 底部曝气混匀后光照条件下 2 种蓝藻的垂向分布

模拟风浪对水体混合均匀后（经过 12 个小时的底部曝气），再经历光暗、无扰动情景。模拟结果表明，在停止曝气后，2 种藻在水柱中的分布也开始分层，均有向表层迁移的趋势。而且随着光暗时间的延长，水柱表层聚集量增大。

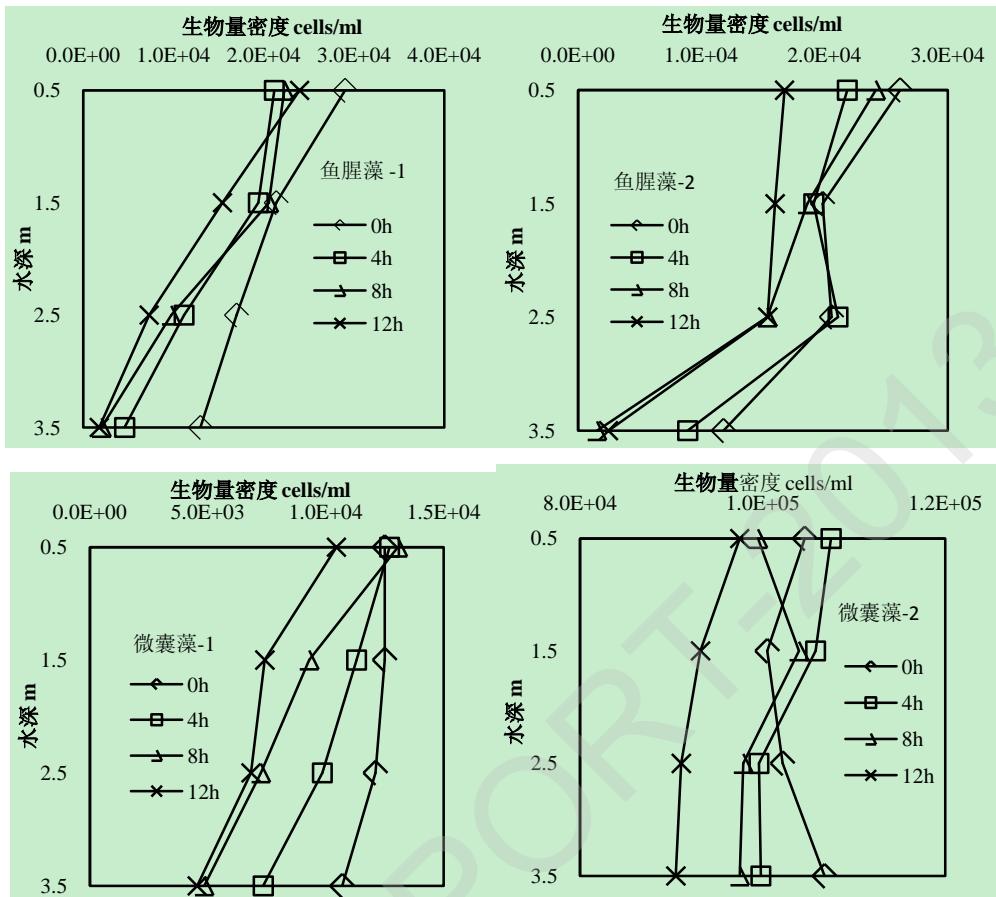


图 2.30 底部曝气混匀后无光照条件下两种蓝藻的垂向分布

光照/无光照阶段各时期水体表层(0~4 cm)聚集的微囊藻和鱼腥藻分别占整个水体生物量的百分率如表 2.3。

表 2.3 微囊藻和鱼腥藻表层聚集量分别占整个水体生物量的百分比

光照/光暗时间	4 h	8 h	12 h
微囊藻(光照)	28.7%	43.3%	70.0%
微囊藻(光暗)	7.3%	9.0%	47.1%
鱼腥藻(光照)	43.5%	32.4%	24.6%
鱼腥藻(光暗)	27.8%	30.4%	25.7%

2.4.3.3 结论

模拟温度分层情景，鱼腥藻主要分布在 0~3.5 m 的水层，微囊藻主要分布在 0~2.5 m 的水层，鱼腥藻在垂向方向上分布范围比微囊藻更广。鱼腥藻在白天由表层向深层迁移，并且稳定的聚集在 1~2.5 m 的水层；微囊藻白天时则由底层向 0~1.5 m 层聚集。

模拟风浪作用下的等温环境（底部曝气 12 h），微囊藻和鱼腥藻在水柱中均匀分布。水柱停止扰动后，微囊藻更容易向表层聚集，70.0%的微囊藻和 24.6%的鱼腥藻向表层聚集；底部曝气形成等温环境光暗 12 h 后，47.1%的微囊藻和 25.7%的鱼腥藻聚集在表层。

2.4.4 总结

1) 低温下鱼腥藻容易占据优势, 高温下微囊藻容易占据优势, 温度变化是微囊藻和鱼腥藻季节性演替的关键因子

低温下 (15°C) 鱼腥藻生长较快, 容易占据竞争优势, 而在高温下 (高于 25°C), 微囊藻生长较快, 容易占据优势, 温度是富营养化水库鱼腥藻水华和微囊藻水华季节性演替的关键因子。

2) 低氮条件下鱼腥藻容易占据优势, 高氮条件下微囊藻容易占据优势

低氮 (硝酸盐氮或氨氮) 条件下, 鱼腥藻生长较快, 容易占据优势, 而高氮条件下, 微囊藻生长较快, 容易占据优势。在水体富营养化发展中, 氮是水体藻华优势种演变的重要因子。氨氮与硝酸盐氮对 2 种藻的竞争影响程度不同, 说明水体中不仅总氮, 而且氮形态的变化都有可能使水体中水华优势种发生变化。

3) 氮不仅影响微囊藻和鱼腥藻的生长, 对 2 种藻的浮力及浮力调节影响也很大。氮限制对微囊藻的浮力及浮力调节影响很大, 而对鱼腥藻影响很小。

4) 微宇宙模拟表明, 在分层的水柱中, 鱼腥藻群体在水柱中分布的范围更大, 同时表现出更强的浮力调节能力; 而微囊藻群体因具有强的浮力, 但浮力调节能力弱, 分布在更浅的表层。

5) 在洋河水库等典型北方浅水型富营养水库中, 夏秋季容易形成弱分层的水体, 表层 ($0\sim 4 \text{ m}$) 温度略高于下层 $2\sim 5^{\circ}\text{C}$ 。当水体富营养化程度较低时, 水体中形成的光和营养的分层。一方面, 低氮条件下鱼腥藻较微囊藻更容易占据优势; 另一方面, 鱼腥藻较微囊藻具有较强的浮力调节能力和在水柱中分布更大的范围, 更适应光和营养分层的水体。而当营养程度较高时, 整个水柱中氮水平上升, 主要是光控制水柱藻类资源竞争。群体具有较大浮力、在水柱中分布更浅的微囊藻更容易占据优势。在富营养化水体中, 在温度较低的夏初和晚秋, 鱼腥藻凭借较强的耐低温能力, 仍能占据优势并可能发生水华。光驱动下藻类群落形态演变规律

2.5 洋河水库水文及水质特征

2.5.1 地形

本研究中, 同样采用 ADCP 对洋河水库库底进行精确扫描, 对获取的深度资料利用 kringing 方法插值, 最后获得水库地形图如图 3.1 所示。可以看出, 水库深度从北往南不断增加, 在大坝处最大深度达到 14 m 左右, 而水库大约 50% 面积深度小于 4 m , 集中在水库北部。水库的地形有利于南部深水区底泥中氮磷等营养盐的富集, 而取水口正好位于南部深水区, 因此取水深度不宜过深, 否则水体中营养盐容易出现过高的情况。

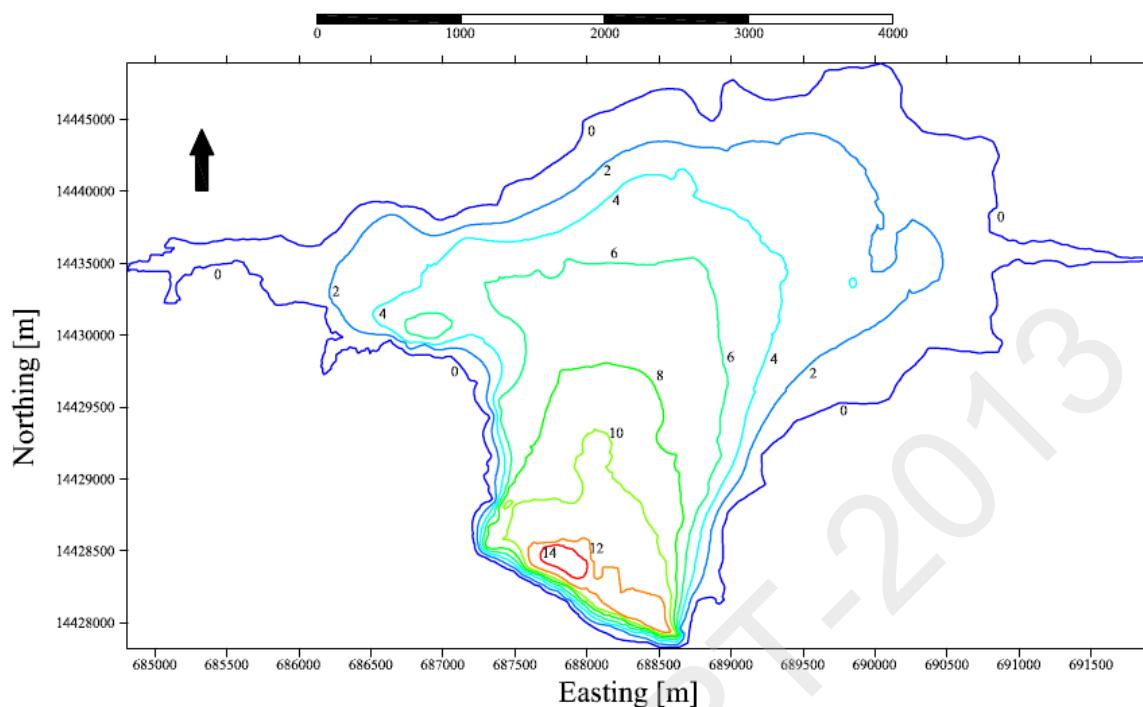
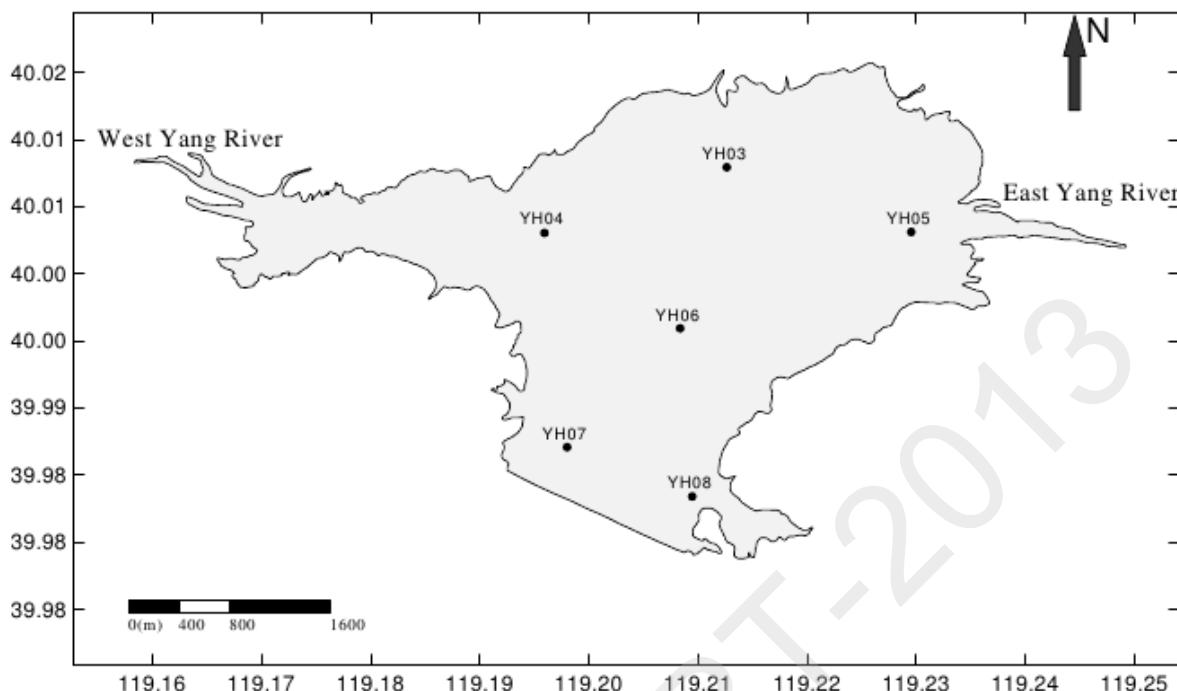


图 3.31 洋河水库库底地形图

2.5.2 采样

洋河水库采样点设置如图 3.2 所示, 包含六个常规采样点(YH03、YH04、YH05、YH06、YH07、YH08), 其中 YH08 位于水库东南角, 为水厂取水口, 通过一个 15 米宽, 5 米深, 40 米左右长的梯形引水渠连接自来水源水管道阀门。具体的经纬度坐标见表 3.1。



注: YH03: 北库心; YH04: 西洋河口; YH05: 东洋河口; YH06: 库心; YH07: 库南;
YH08:水厂取水口; West Yang River: 西洋河; East Yang River: 东洋河

图 3.32 洋河水库地图及采样点

表 3.4 洋河水库采样点经纬度坐标

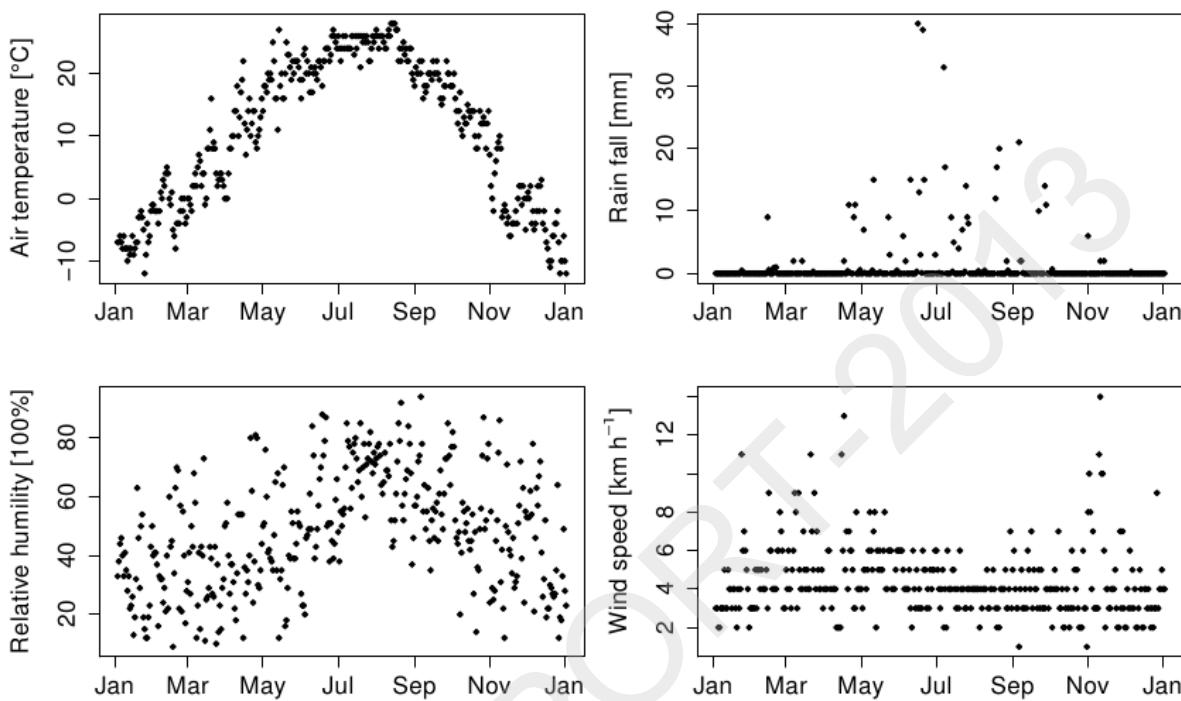
采样点名称	经度	纬度
YH03	119° 12.7597'E	40° 0.4753'N
YH04	119° 11.7572'E	40° 0.1815'N
YH05	119° 13.7737'E	40° 0.1861'N
YH06	119° 12.5033'E	39° 59.7550'N
YH07	119° 11.8822'E	39° 59.2245'N
YH08	119° 12.5694'E	39° 59.0041'N

水样采集用 5 L 有机玻璃采水器采取表层、中层和底层的水样，表层水样一般为水面下 50 cm 处，中层水样为 5 m 水样，底层水样为底泥上约 50 cm 处。藻类分析鉴定样品用 76 μm 浮游生物网在水面捞取，藻类定量水样用鲁戈氏液固定沉淀富集后在显微镜下计数。

2.5.3 气象与水文

洋河水库位于中国河北省东北部，属于暖温带半湿润大陆性季风气候，因受海洋影响较大，气候比较温和，春季降雨少，比较干燥，夏季温热无酷暑，秋季凉爽多晴天，冬季漫长无严寒。如图 3.3 所示，2009 年气温在零下 12°C–28°C 之间，最高气温出现在 7 月中旬，最低温度出现在 12 月底，

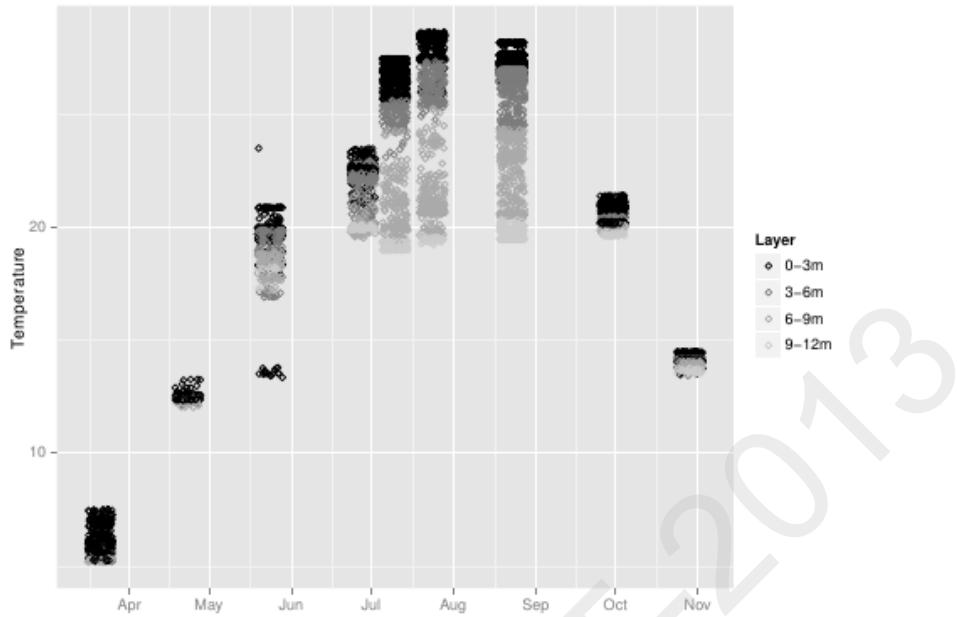
20°C 以上的气温大约从五月份开始持续 4 个月, 为蓝藻适合生长期。全年降雨量不多, 为 453.5 mm, 并主要集中在 6-7 月, 分别为 136 mm 和 107 mm。春季和冬季多风, 主要集中在 3 月、4 月和 11 月。



注:左上: 气温; 右上: 降雨量; 左下: 相对湿度; 右下: 风速

图 3.33 洋河水库 2009 年气象资料

如图 3.4 所示, 洋河水库全年水温在 4°C–28°C 之间, 同气温相比, 水温相对滞后 2 周左右, 最高温度在 7 月底、8 月初出现。图中为 6 个采样点多层水温, 可以看出, 3 月份, 4 月份以及 10 月份和 11 月份, 各层水温相差不大, 而从 5 月底到 8 月底期间, 表层水温和底层水温相差较大, 形成了温跃层, 最大温差在 7 月底出现, 相差约 10°C。



注:数据为洋河水库 2009 年 6 个采样点, 9 次水温调查结果

图 3.34 洋河水库水温季节变化

根据水温垂直剖面分析, 结合水的密度温度曲线, 研究了洋河水库取水口(YH08)2009 年水体热分层情况, 如图 3.5 所示, 从 7 月份开始, 表层水体密度变化十分明显, 形成了稳定的温跃层, 混合层深度最低至 0.3 m 左右。到 9 月底, 混合层深度明显增大, 水体层化现象逐步消失。

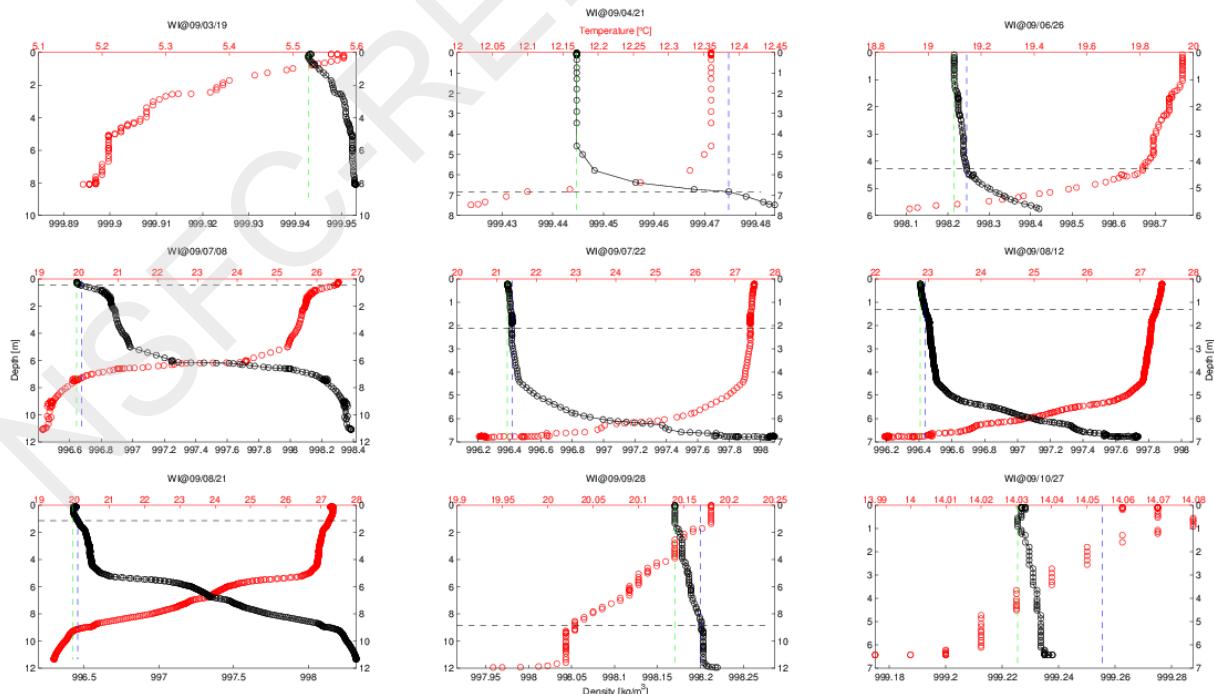
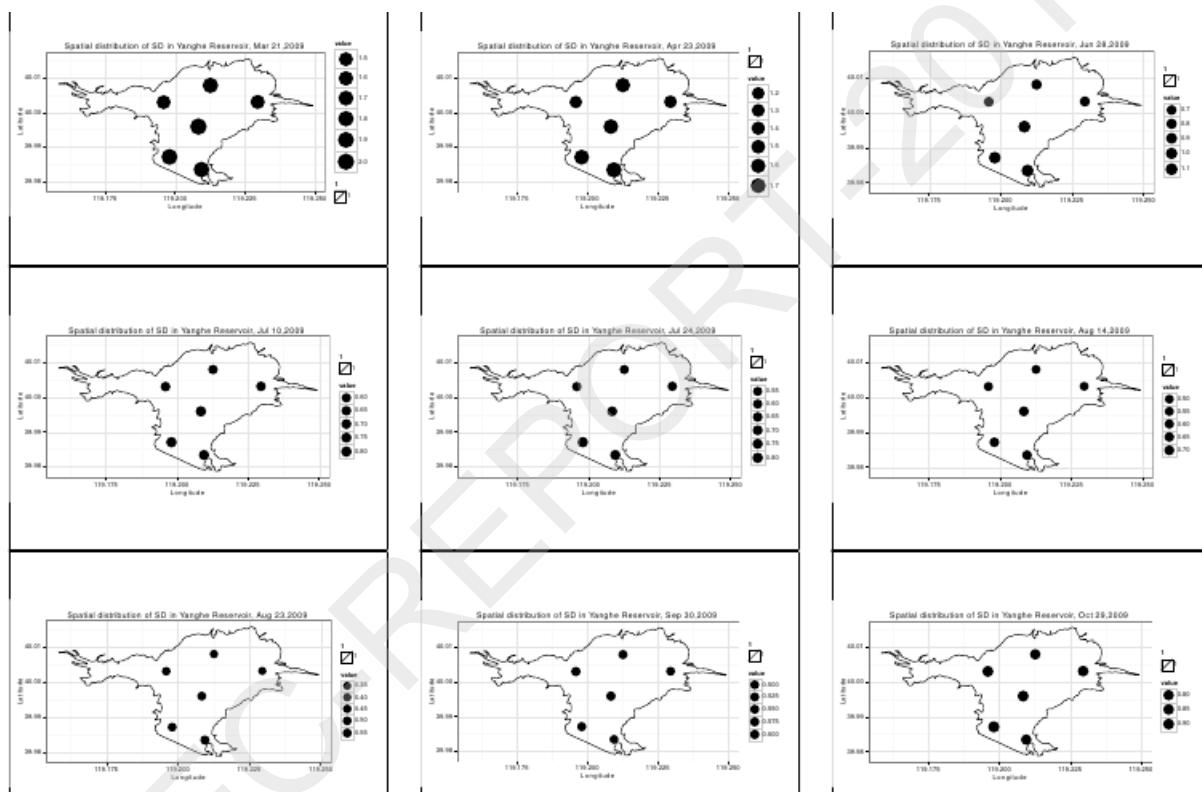


图 3.35 洋河水库取水口混合层深度变化



2.5.4 透明度时空变化

洋河水库 2009 年水体透明度季节与空间变化如图 3.6 所示，可以看出，透明度的季节变化非常明显，3 月份时，透明度相对较高，为 1.5 - 2.0 m 之间，接着水体透明度不断降低，到 8 月底时透明度非常低，不到 0.5 m。之后逐渐上升，到十月底时，透明度增高至 0.8 - 0.9 m 之间。相对来说，空间变化不明显，在所有采样日期内，北部透明度均稍微小于南部深水区，这可能是因为受两条河流入流的影响，水体浊度较高，加上水深较浅，适合藻类生长，导致透明度相对低一些。总体来说，洋河水库水体透明度较低，与深水型密云水库相比，透明度基本上只有其一半左右，说明洋河水库富营养化情况明显比密云水库要严重得多。



注:图片按时间顺序排列,从左至右,从上至下,圆点直径的大小代表透明度大小,直径越大,透明度越高,对应的位置为采样点位置

图 3.36 洋河水库透明度时空变化

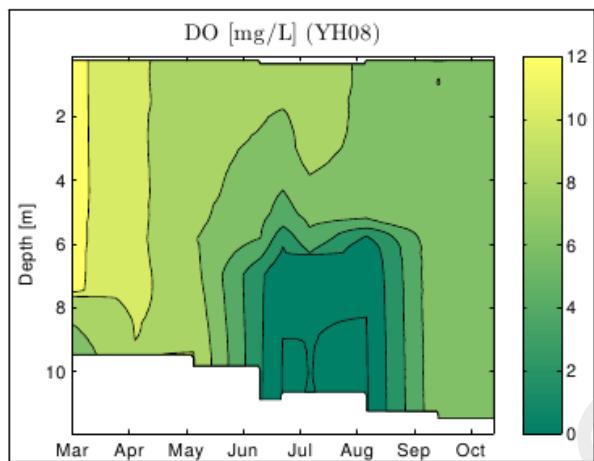
2.5.5 溶解氧时空动态变化

洋河水库 2009 年溶解氧的垂直与季节分布如图 3.7 所示，在春季、初夏以及冬季期间，溶解氧的垂直分布比较均匀，这是因为水体没有形成明显热分层，垂直混合较强。而在 6—8 月底之间，溶解氧在表层浓度为 9 mg L^{-1} 左右，而底层几乎处于完全厌氧状态，溶解氧的剧降出现在水体 6 m 深度处，因此北部区域水深小于 6 m 的地区，底层并非完全厌氧状态。



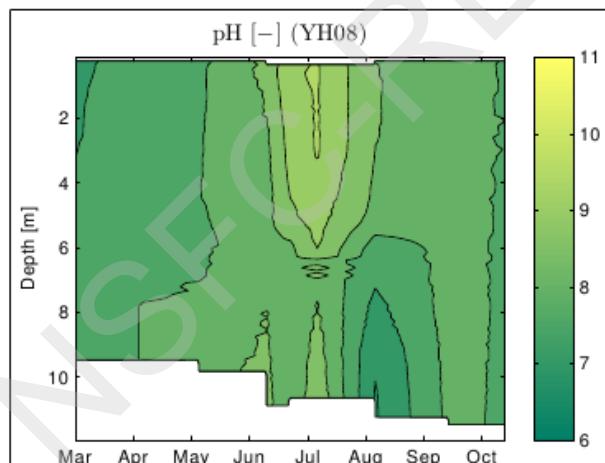
2.5.6 pH 时空动态变化

如图 3.8 所示, 洋河水库水体 pH 值季节变化比密云水库的变化更明显, 除夏季和初秋高温季节以外, 水体的 pH 值较低, 大约处于 6 - 7 之间, 并且和溶解氧一样, 由于混合对流的缘故, 垂直变化不明显; 而在高温时期, 由于藻类大量爆发, 光合作用消耗了水体中大量的 CO₂, 导致水体 pH 上升; 因此在这一段时间, 表层水体的 pH 值非常高, 最高值接近 11, 如此高的 pH 也说明洋河水库对 pH 的缓冲能力也不强, 不利于鱼类等水生生物的生长; 同时, 这一时期的垂直变化相比低温时期要大一些。



注:数据来源: YH08

图 3.37 洋河水库溶解氧 2009 年季节变化



注:数据来源: YH08

图 3.38 洋河水库 2009 年 pH 季节变化

2.5.7 营养盐季节动态变化

表 3.2 为 2009 年洋河水库营养盐季节动态变化，其中溶解性总氮浓度较高，约为 $1,800\text{--}47,000 \mu\text{g L}^{-1}$ ，硝酸盐含量同样较高。溶解性总磷含量最高达到 $235 \mu\text{g L}^{-1}$ ，出现在 7 月下旬，这可能与 7 月份降雨量较大，地表径流流量大幅增加，引入了大量的营养盐所致。总体来说，营养盐季节变化十分明显，在 7 月以后，水体中的营养盐含量逐渐下降到调查期末，这可能与大量爆发的微囊藻消耗所致。

表 3.5 2009 年洋河水库营养盐含量季节变化

Date	TDN	Nitrate	Nitrite	Ammonia	TDP	Phosphate
Mar 19	4662.7	1078.5	208.8	528.2	78.3	29.7
Apr 21	4121.5	1004.3	18.2	222.3	151.3	137.3
Jun 26	2735.4	2065.6	56.6	58.8	48.8	11.6
Jul 08	4876.3	3621.9	103.5	79.4	21.2	5.5
Jul 22	3057.7	2726.5	92.1	265.5	235.9	4.0
Aug 12	3662.6	2378.7	80.8	101.2	7.8	4.3
Aug 21	2774.5	2097.3	79.5	54.0	26.4	4.0
Sep 28	2262.6	1764.1	69.8	201.7	17.3	5.0
Oct 27	1863.7	1472.4	81.6	215.4	18.0	15.8

unit: $\mu\text{g L}^{-1}$

2.5.8 其他水质参数

如表 3.3 所示，其他水质参数在洋河水库中空间变化不明显，垂直方向上变化也不大，而季节变化相对较大一些，如电导率在 7 月初达到最低为 $292 \mu\text{S cm}^{-1}$ ，春季达到最高值 $394 \mu\text{S cm}^{-1}$ 。氧化还原电位的季节变化较大，但是没有明显的规律；而浊度在夏季和秋季时较高，可能与藻类生长有关系，叶绿素 α 的浓度呈现十分明显的季节性分布，在 6—8 月期间，叶绿素 α 的浓度为 $12\text{--}20 \mu\text{g L}^{-1}$ ，与表层藻类爆发关系非常密切。而盐度和总溶解固体的变化均是高温时期低，低温时期高。



表 3.6 洋河水库其他常规水质参数

Date	SpCond ¹	orp ²	Turbidity ³	Chl- α ⁴	Sal ⁵	TDS ⁶
Mar 19	0.394	9.633	1.774	6.719	0.190	0.256
Apr 21	0.389	52.259	1.678	5.023	0.190	0.251
May 22	0.360	31.004	1.773	4.255	0.144	0.199
Jun 26	0.339	-16.497	3.323	4.405	0.160	0.211
Jul 08	0.292	-7.108	4.092	12.432	0.140	0.190
Jul 22	0.300	32.786	3.861	15.653	0.140	0.195
Aug 21	0.301	28.103	6.861	20.118	0.140	0.196
Sep 28	0.325	15.480	2.649	10.689	0.154	0.211
Oct 27	0.340	5.382	4.130	5.812	0.170	0.230

¹ 比电导率 [mS cm^{-1}]; ² 氧化还原电位 [mv]; ³ 浊度 [NTU];

⁴ 叶绿素 α [$\mu\text{g L}^{-1}$]; ⁵ 盐度 [$\mu\text{g L}^{-1}$]; ⁶ 总溶解性固体 [g L^{-1}];

2.6 藻类种群调查

在洋河水库藻类种群调查中，共鉴定出藻类 7 门 80 种，如表 3.4 所示。其中绿藻占种群丰度的 40%，蓝藻为 24%，硅藻为 21%。在春季期间，水库中主要优势藻类为多甲藻(*Peridinium sp.*)，库津新月藻(*Closterium kuetzingii*)，变异勾链藻(*Aulacoseira varians*)和脆杆藻(*Feagilaria sp.*)。从 7 月至 11 月，浮游藻类群落开始被铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)和惠氏微囊藻(*Microcystis wesenbergii*)主导，其最高浓度分别为 $47,900 \text{ cells mL}^{-1}$ 和 $14,960 \text{ cells mL}^{-1}$ ；到秋末，微囊藻浓度迅速降至 $150 \text{ cells mL}^{-1}$ 。

表 3.7 洋河水库藻类种群分布

Phytoplankton	3-19	4-21	6-26	7-08	7-22	8-12	8-21	9-28	10-27
Bacillariophyta									
<i>Achnanthes</i> sp.	+	+	+						+
<i>Asterionella formosa</i>		+							
<i>Autosphaera granulata</i>	++	++	+++	+++	+				++
<i>A. granulata</i> var.		+	++	+++					
<i>Cyclotella</i> sp1	++	++	++	+++	+++	+++	++	++	++
<i>Cyclotella</i> sp2	++	++	++	+++	+++	+++	++	++	++
<i>Cymbella</i> sp.									
<i>Diploneis</i> sp.	+	+	+	+++	+				
<i>Fragilaria</i> sp.	++	++	++	++++	+++	+++	++	++	++
<i>Gymnodinium</i> sp.	+	++	++	++					+
<i>Mesocystis varians</i>	++	++	++	++	+++	+++	++	++	++
<i>Nasicaula</i> sp.	+	++	++	+++	++	++	++	++	++
<i>Nitzschia</i> sp.									
<i>Pinnularia</i> sp.									
<i>Rhizosolenia</i> sp.	+	+	++	++	++		+	+	+
<i>Stephanodiscus</i> sp.		+	++	++					
<i>Synechra</i> sp.	++	++	++	+++	+++	++	++	++	+
Chlorophyta									
<i>Ankistrodesmus striatus</i>	++	++	+	+++		+++			++
<i>Cartieria</i> sp.		+	+	++	++				+
<i>Chlamydomonas</i> sp.									
<i>Cladophora longissima</i>	++	++	+						
<i>Cladophora diatoms</i>									
<i>Cladophora kuetzingii</i>	++	++	+	++			++	++	+
<i>Coelastrum microporum</i>									
<i>Cosmarium</i> sp.	++	+		++					
<i>Cryngienia</i> sp.									
<i>Ecklonia kofoidii</i> sp.	++	+	+	++	++				
<i>Eudorina elegans</i>		+	+	++	+				
<i>Glossoglypta</i> sp.									++
<i>Golenkinia pacifica</i>	+	+	+						
<i>Lagerheimia ciliata</i>	++	+							
<i>Monoraphidium mirabile</i>									
<i>Oscytsis solitaria</i>	++	++	++	++	++	+++		++	
<i>Oscytsis submersa</i>		++	+	++					
<i>Pseudorina merula</i>	+	+		++			++		
<i>Pediastrum bergeranum</i>									+
<i>Pediastrum diploë</i>		++							++
<i>Pediastrum simplex</i>	++	++	+	+++		++			++
<i>P. simplex</i> var. <i>duodenarium</i>	++	++	++	++++	++++			+	++
<i>Phecofus tenuiculus</i>									+
<i>Scenedesmus acutus</i>									
<i>Scenedesmus quadrivalvis</i>	++	++	++	+++	+++	+++	++	++	++
<i>Schmidleria nitzschiae</i>	++	+							
<i>Solenastrum</i> sp.		+	++		++			+	
<i>Staurastrum</i> sp.	+	+	++	+	++		+++	++	++
<i>Tetradon minimum</i>									
<i>Tetradon pusillum</i>									
<i>Tetradon trigonum</i>	++	++	++		++			++	++
<i>Tetradon trileptatum</i>	+	++	+					++	++
<i>Volvic</i> sp.									
Chrysophyta									
<i>Chromatina</i> sp.	+	+	+	++	++		++		+
<i>Dinobryon</i> sp.	+	+		++	++			++	+
<i>Ochromonas</i> sp.	+	+	+	++	++				+
Cryptophyta									
<i>Chroomonas</i> sp.									
<i>Cryptomonas ovata</i>	++	++	+	+++	++	++		++	++
Cyanophyta									
<i>Anabaena flos-aquae</i>									
<i>Anabaena spiroides</i>	+		+	++	++	++	++	++	+
<i>Anabaenopsis arnoldii</i>									
<i>Arthrospira</i> sp.									
<i>Chroococcus</i> sp.									
<i>Coleosphaerium</i> sp.									
<i>Gloeocapsa</i> sp.	++	+	+	++	++	++	++	++	+
<i>Merismopedia</i> sp.									
<i>Micromycetes aeruginosa</i>	++	++	++	++++	++++	++++	++++	++	++
<i>Micromycetes flos-aquae</i>	++	++	++	++++	++++	++++	++++	++	++
<i>M. nannodes</i>	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>M. pseudoflamentosa</i>	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>Micromycetes uesenbeckii</i>	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>Nostoc</i> sp.	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>Oscillatoria</i> sp.	+	+							
<i>Phormidium</i> sp.	+	+	+	++	++	++	++		
<i>Rhizothrix</i> sp.	+	+	+	++	+	++			
<i>Rhizoplanea</i> sp.	+	+	+	++					
<i>Synchrogyria</i> sp.	+	+	+	++					
Euglenophyta									
<i>Euglena</i> sp.									
<i>Trachelomonas</i> sp.									
Pyrrhophyta									
<i>Ceratium hirundinale</i>									
<i>Gymnodinium</i> sp.	++	+	+	++	++		++		+
<i>Peridinium</i> sp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ : (0, 1); ++ : [1, 10]; +++ : [10, 100]; ++++ : [100, 1000]; +++++ : [1000, 10000] cells mL⁻¹

2.6.1 藻类种群动态变化

图 3.9 为洋河水库藻类种群多样性(Shannon index)季节动态变化, 可以看出, 多样性指数在春季和冬季较高, 最高在 4 月份出现, 超过了 3.5。从 6 月份开始到 8 月份, 由于微囊藻爆发占据了主导地位, 多样性指数相对较低, 为 1 - 1.5 之间, 在 9 月份, 随着气温降低, 微囊藻的优势逐渐下降, 其他藻类开始慢慢生长, 多样性指数明显增加。

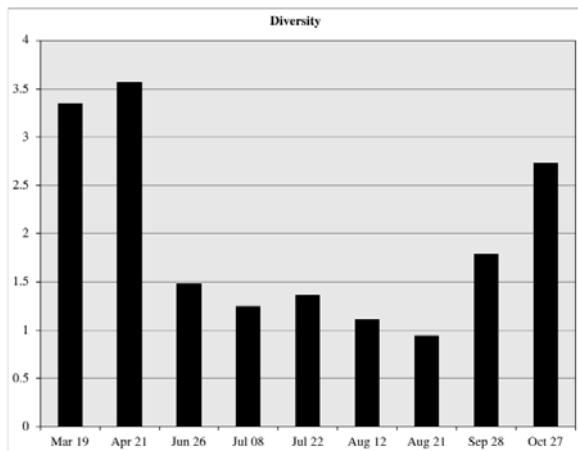


图 3.39 洋河水库藻类种群多样性季节动态变化

藻类种群的均一度季节变化十分明显,如图 3.10 所示,曲线越接近 $y = x$ 表示物种均一度非常高,即每个物种个体数非常接近。相反,若曲线偏离 $y = x$ 越多,则表示物种之间个体数相差较大。在洋河水库中,9 月份和 10 月份均一度相对较高一些,而 7-8 月份,物种均一度相对要低很多,这是由于微囊藻细胞密度相对较高,其余藻类数量相对较低所致。

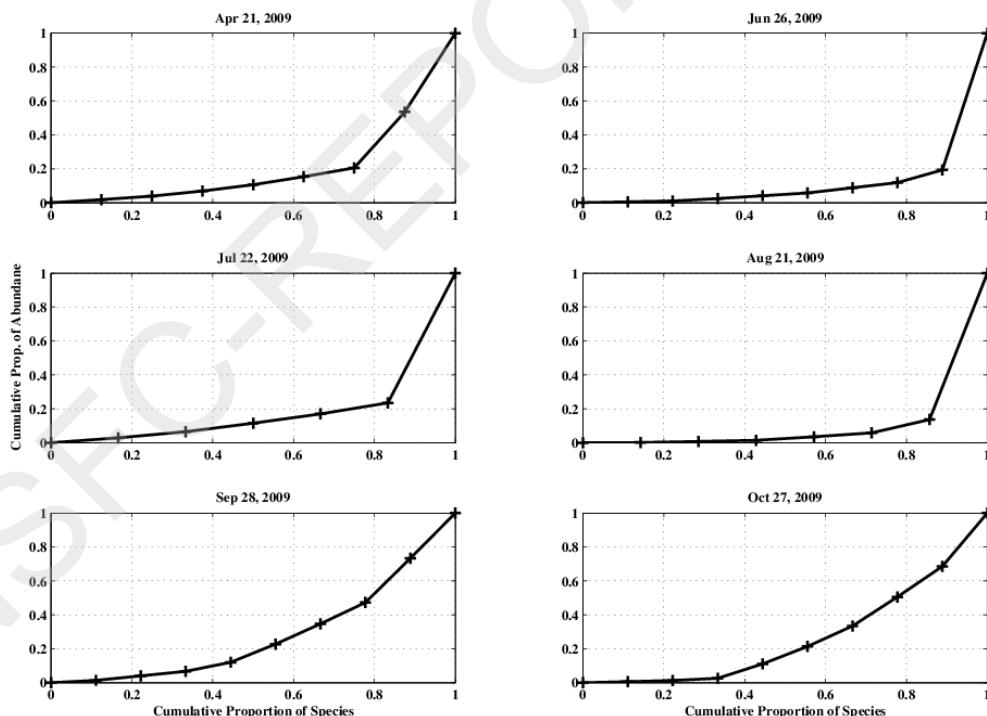


图 3.40 洋河水库藻类均一度动态变化

2.6.2 微囊藻爆发及其影响因子

2009 年,洋河水库爆发的高密度微囊藻,根据测定的数据分析微囊藻爆发机理。高浓度的氨是微囊藻生长的主要前提条件,两者之间存在一定的相关性,如图 3.11 所示,当溶解性总氮浓度小于 $4 \mu\text{g L}^{-1}$ 时,微囊藻生物量与溶解性总氮之间显著线性相关($y = -0.085 + 1.2 x, r^2 = 0.488, p < 0.05$)。



而当水体中溶解性总氮大于 $4 \mu\text{g L}^{-1}$, 微囊藻细胞密度偏离了线性关系, 相对较低, 这可能是由于高浓度的 TDN 往往是出现在春季和冬季, 光照和温度均不适合微囊藻生长。另外, 磷也是微囊藻爆发的关键条件之一。

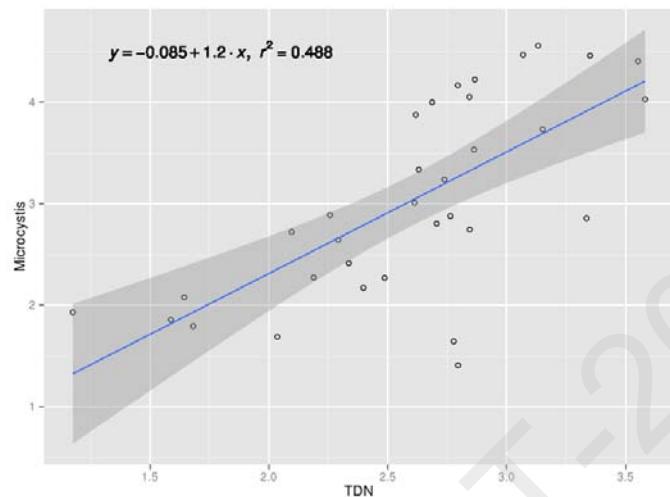


图 3.41 洋河水库溶解性总氮与微囊藻生物量之间的关系

微囊藻与水温之间也存在显著的相关性($y = -0.29 + 0.15 x, r^2 = 0.899, p < 0.05$), 如图 3.12 所示, 水温在 $6\text{--}28^\circ\text{C}$ 之间, 微藻藻细胞密度随水温增加而增加。与密云水库中微囊藻局部爆发相似, 水温实际上是累积太阳辐射的反映, 也就是说, 微囊藻的生长与光照之间存在显著的相关性。

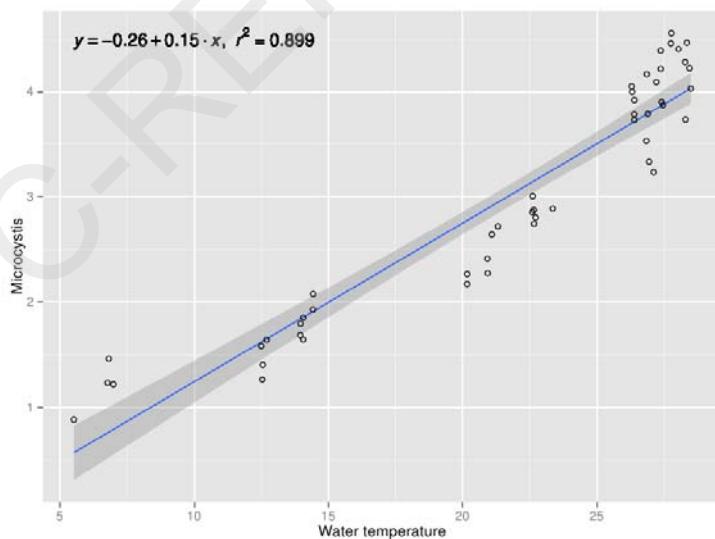


图 3.42 洋河水库微囊藻与水温之间的关系

2.7 光驱动下藻类形态演替规律

浮游生物群落结构组成往往具有一定的季节性, 一般来说, 硅藻在春季和冬季等低温季节占优势, 蓝藻在夏季和秋季高温季节容易成为优势藻, 而绿藻在季节变换或者是群落结构发生较大变化时短时间具有一定优势^[46]。另外, 浮游生物具有相当高的形态多样性^[47-49]: 藻细胞大小范围覆盖

了从 picoplankton ($< 1 \mu\text{m}^3$) 到大型 dinoflagellates ($> 50,000 \mu\text{m}^3$) 近 6 个数量级^[50]。细胞较小的藻种爆发时往往会产生一些附带的水质问题：新陈代谢中产生藻毒素已经在全世界范围内广泛报道比如微囊藻(*Microcystis* sp.)^[51], 鱼腥藻(*Anabaena* sp.)^[52], 水华束丝藻(*Aphanizomenon flos-aquae*)^[53], 颤藻(*Oscillatoria* sp.)^[54] 以及胶刺藻属 *Gloeotrichia echinulata*^[55] 等等。另一方面，细胞较大的藻种爆发时经常会导致水厂滤池堵塞，严重威胁到供水安全，比如锥囊藻(*Dinobryon* sp.)^[7], 舟形藻(*Navicula* sp.)^[56], 针杆藻(*Synedra* sp.)^[57], 小环藻(*Cyclotella* sp.)^[58] 以及脆杆藻(*Fragilaria* sp.)等等^[59]。因此，对浮游生物群落结构形态演替驱动因子的理解在供水水质管理中具有非常重要的作用。

营养盐、温度与光照被广泛认为是影响浮游植物形态的 3 个最关键的因素。有研究报道称一定频率的营养盐脉冲可以有效的控制和调节浮游植物丰度和群落结构^[60, 61]。另一方面，有人发现水温在很大程度上会影响浮游植物的形态分布^[62, 63]。另外，在营养盐充足的水体中，水下有效光分布显著的影响了浮游植物形态^[64, 65]。在低光照的条件下，有利于消光系数较高的藻细胞生长，因为获取光能力越高越容易适应在低光条件下吸收更多的光维持藻类生长^[66]。然而，水下光分布主要取决于太阳辐射、水深以及水体的光穿透能力。对于浮游植物能利用的有效光的强弱则主要受水体混合过程中垂直运动以及水体透光区深度的影响：如果混合层深度(z_{mix})小于或者等于透光层深度(z_{eu})，则藻细胞在白天有太阳辐射的时间段内可以连续的进行光合作用，相反，当 z_{mix} 大于 z_{eu} 时浮游植物在垂直运动中很有可能进入水体透光层以下而无法进行光合作用，但是呼吸作用可以依旧进行^[67]。浮游藻类的细胞大小影响细胞各种生理过程速率以及生态功能，包含新陈代谢速率(生长速率、光合作用以及呼吸作用)、光吸收效率^[68, 69]，营养盐扩散、吸收与需求^[70-73]，颗粒物沉降速率，最大生物量以及被捕食的速率^[74-76]。大量研究曾使用细胞体积(V)和比表面积(S/V)作为浮游植物中两个最好的形态学参数。然而如果使用生物体积 V 则会损失细胞的形态信息；比表面积 S/V 则是一个相对较好的参数，它在一定程度上包含了细胞的形态学信息，同时比表面积也能反映营养盐的吸收的释放过程^[77]。然而，对于浮游藻类最重要的生理过程—光合作用，却无法得到很好的描述：藻细胞的光获取能力主要取决于细胞的有效辐射面积(effective radiated area, ERA)；并且，水下光辐射主要由均一向地方向的太阳光组成。因此，使用生物体积或者比表面积在一定程度上难以表征藻细胞获取光能力的大小。

于是，找到一个能直接并有效的描述浮游藻类细胞的光合作用特征对于研究不同有效光条件下细胞形态的变化是非常必要的。细胞投影面积(cellular projective area, ϕp)，是指将藻细胞投影至一个平面上对应的阴影部分的面积^[78]，在本研究中，将用于表征细胞的有效辐射面积。另外，本研究建立了一个模型，用于阐述在光限制条件下浮游藻类在不同自然光下的形态变化，并考虑了太阳辐射和混合层/透光层($z_{\text{mix}}/z_{\text{eu}}$)比值的影响。另外，该模型通过引入一个新的能够描述细胞形态的几何学参数：细胞扁平率(cellular flattening index, f)，可以反映浮游藻类细胞的能量需求。

洋河水库是中国华北地区秦皇岛市一个非常重要的饮用水水源地，近几年来，水库每年夏季频繁遭受蓝藻爆发^[17, 79]。本研究利用 2009 年在洋河水库中监测到的藻类和水质数据，验证了提出的在光限制条件下藻类形态演替的模型。本研究将有利于理解水体中的浮游藻类群落结构动态变化的



驱动因子以及在不同光条件下藻细胞形态的变化。

2.7.1 藻细胞几何模型

投影面积是指任何形体以一定方位或角度投射至一平面形成的阴影部分面积大小，如式(3.1)所示^[78]。

$$\varphi_p = \int_{\varphi} \cos \beta d\varphi \quad (3.1)$$

其中 β 是入射太阳光与平面之间的角度， φ 是原位表面积。最大投影面积(φ_p')是 $\max(\varphi_p')|\beta|$ ，即在不同角度下对应不同的投影面积，并且至少存在一个 β 使得投影面积 φ_p 最大；为简单起见，下文中最大投影面积(φ_p')直接用投影面积(φ_p)表示。将藻细胞用 5 中典型的几何模型表示，并用投影面积定义建立了 5 个计算 φ_p 的公式，如表 3.5 所示。同时用建立的公式获取了洋河水库中采集的藻细胞样品的投影面积(φ_p)和生物体积(V)，并用投影面积和细胞体积的算术平均值来校正模型。



表 3.8 五种藻细胞几何模型最大投影面积计算公式

Geometric model	Maximum cellular projected area(φ_p)	Cell form ¹
Sphere	$\varphi_p = \pi r^2$	
Prolate spheroid	$\varphi_p = \pi ab$	
Cylinder	$\alpha = \arctan\left(\frac{2r}{r}\right);$ $\varphi_p = \pi r^2 \sin(\alpha) + 2rh \cos(\alpha)$	
Double cone	$\varphi_p = 4hr$	
Rectangular box	$\lambda = \sqrt{a^2 + b^2 + c^2}; \lambda_a = \sqrt{b^2 + c^2}; \lambda_b = \sqrt{a^2 + c^2};$ $\lambda_c = \sqrt{a^2 + b^2}; l_i = i \frac{\lambda_i}{\lambda} (i = a, b, c);$ $\varphi_p = l_a l_b \sqrt{1 - \frac{\left[l_a^2 + l_b^2 - \lambda_c^2 \left(1 - \frac{(a^2 - b^2)^2}{\lambda^2 \lambda_c^2}\right)\right]^2}{4l_a^2 l_b^2}}$ $+ l_b l_c \sqrt{1 - \frac{\left[l_b^2 + l_c^2 - \lambda_a^2 \left(1 - \frac{(b^2 - c^2)^2}{\lambda^2 \lambda_a^2}\right)\right]^2}{4l_b^2 l_c^2}}$ $+ l_c l_a \sqrt{1 - \frac{\left[l_c^2 + l_a^2 - \lambda_b^2 \left(1 - \frac{(c^2 - a^2)^2}{\lambda^2 \lambda_b^2}\right)\right]^2}{4l_c^2 l_a^2}};$	

¹ Different cell form has different linear dimensions: Sphere- radius (r); Prolate spheroid- semi-principal axes (a), semi-minor axes (b , $a > b$); Cylinder- radius (r), height (h); Double cone- radius (r), height (h); Rectangular box- length (a), width (b), height (c).

2.7.2 太阳高度角计算方法

太阳高度角是指太阳光的入射方向和地平面之间的夹角^[80]，与当地的纬度，海拔高度以及日期和时间有关系。本研究中，用日最大太阳高度角(θ , 当地时间 12:00 AM)来表征当天太阳辐射强度。太阳高度角的计算方法见^[81]。

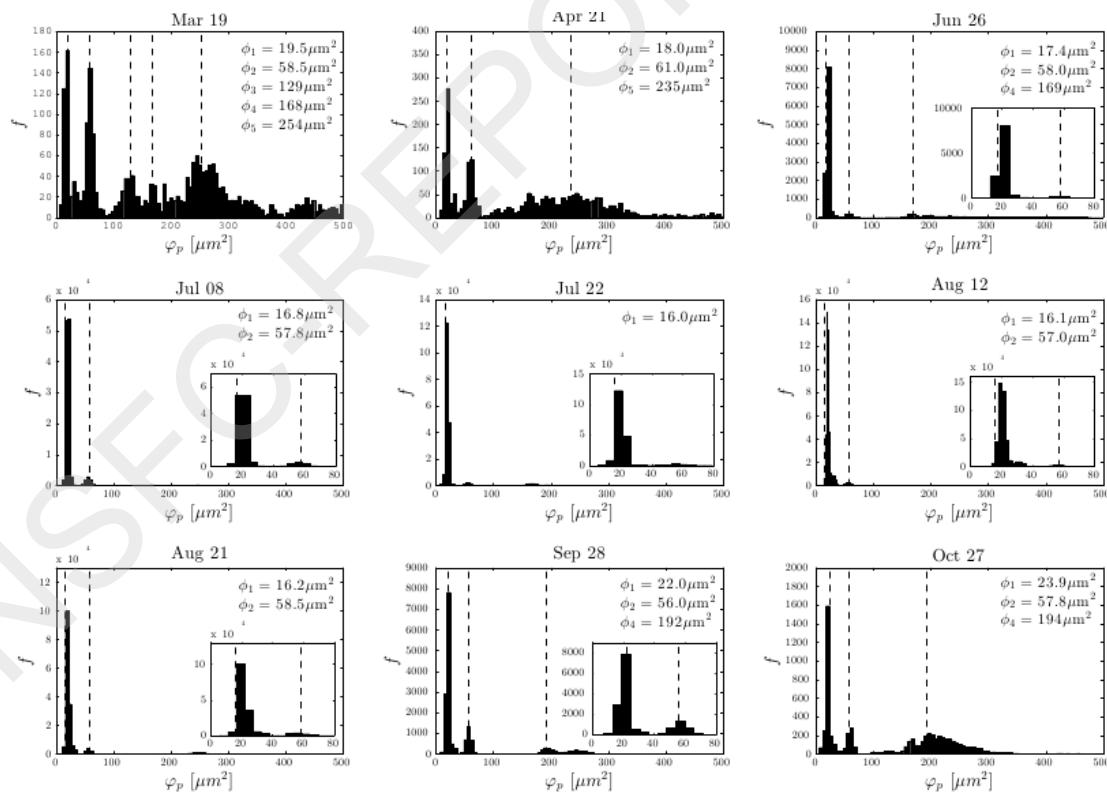
2.7.3 热分层与营养盐分布

在调差期间，洋河水库中混合层深度(z_{mix})季节与空间变化均比较明显。由于出流的影响，在 YH08 取水口位置的水体混合强度要高于其他采样点；然而，在北库区混合深度(z_{mix})较浅尽管有东洋河与西洋河的影响。在 6 月下旬与 9 月中旬期间，水库水体出现了明显的热分层现象，水体表

层溶解氧含量非常高,而底部的溶解氧几乎为零。最小的混合层深度(z_{mix})约为 0.5 m,出现在 7 月底 8 月初。当时的水温也达到最高,在表层达到 27°C,而底层则只有 20°C 左右。水体透明度在夏季较低,最小值 0.5 m 和最大值约 2 m 分别在 8 月份和 3 月份出现。此外, pH 的变化也一定程度上反映了光合作用的活性,最低值 7.5 在 3 月份测得,而最高值 9.4 在夏季高温季节测得。营养盐的时空分布情况见 § 3.1.7 “营养盐季节动态变化”。

2.7.4 藻细胞形态分布

在洋河水库中总共收集了 80 种藻类详情见表 3.4 所示。其中 *Raphidiopsis* sp. and *Closterium kuetzingii* 分别具有最小(5.59 μm^2)和最大(5,518 μm^2)投影面积。但是, 投影面积大于 500 μm^2 的藻种比较稀少。如图 3.13 所示, 投影面积在不同的季节分布极不相同。在 3 月份, 投影面积在 0–500 μm^2 之间分布相对比较均匀,由五个分布峰组成 φ_1 – φ_5 , 分别为 19.5, 58.5, 129, 168 以及 254 μm^2 。在 4 月份, 出现了 3 个分布峰(φ_1 , φ_2 , φ_3), 其中第一个峰与 3 月份相比降低至 18.0 μm^2 。在 6 月份至 7 月份期间, 投影面积主要分布在第一个分布峰左右,并通过 Mann-Whitney 统计检验证明了分布形式与其他月份显著不同($p < 0.01$), 如表 3.6 所示。从 8 月份开始, 第一个分布峰 φ_1 开始增长, 到 10 月份, 分布峰变为 3 个。



注: the range of $\varphi_p > 500 \mu\text{m}^2$ was not shown, φ_1 – φ_5 are the φ_p of the distribution peaks

图 3.43 2009 年洋河水库中浮游藻类细胞投影面积分布图

表 3.9 Mann-Whitney 方法检验不同采样日期藻细胞投影面积分布形态

<i>p</i> -value*	Mar 19	Apr 21	Jun 26	Jul 08	Jul 22	Aug 12	Aug 21	Sep 28	Oct 27
Mar 19	1								
Apr 21	0.563	1							
Jun 26	0.001	0.006	1						
Jul 08	0	0	0.066	1					
Jul 22	0	0	0.046	0.941	1				
Aug 12	0.108	0.386	0.099	0.002	0.001	1			
Aug 21	0.455	0.785	0.02	0	0	0.51	1		
Sep 28	0.031	0.072	0.358	0.003	0.002	0.458	0.167	1	
Oct 27	0	0	0.091	0.537	0.466	0.005	0	0.006	1

* $p < 0.05$, significant difference at level 0.05, $p < 0.01$, significant different at level 0.01.

2.7.5 模型构建

营养盐、水温以及光照被认为是影响浮游藻类形态的 3 个关键影响因子^[60-65]。然而，在天然水体中，水温与太阳辐射的相关性非常显著，可以将水温看成是水体接受太阳辐射累积的结果；因此，如果营养盐在水库或者湖泊中是充足的，则光照就成为了影响藻细胞形态的最关键因素。本研究也主要考虑了在富营养水体中光限制条件下，浮游藻类形态的动态变化，其中由于营养盐含量充足，其影响力在本研究中被忽略了。在这种环境下，浮游藻类群落中具有较好光获取能力的藻种可能比具有较好的营养盐获取能力的藻种更具有优势^[82]。

光合作用是浮游藻类最重要的生理过程之一，将光能转化为化学能并以糖的形式保存在细胞内^[83]。而其中两个影响浮游藻类光合作用的两个最重要的影响因子—水下光分布与细胞的光获取能力。其中前者主要取决于太阳辐射，水体透明度以及藻细胞水深，而后者则取决于细胞的投影面积。在不同的光条件下，具有合适大小投影面积的藻细胞具有一定的优势；此外，若藻细胞中具有气囊能调节藻细胞在水体中垂直深度也会带来一定的优势^[84]。然而，为了不增加模型的复杂度，在本研究中只考虑了细胞形态学策略。

光合作用效率主要取决于细胞截取到的太阳辐射^[85, 86]；另一方面，藻细胞越大由于具有较大的投影面积(ϕ_p)则越有利于获取更多的光能。假定在相同光照条件下，藻细胞光合作用效率相同，这就意味着藻细胞吸收的光能(Ψ_l)就主要取决于投影面积 ϕ_p ，水下光强(I), 以及一天中的日照时间(T, $T \leq 24\text{ h}$)，其关系如式(3.2)所示(实际上，在公式中光合作用效率当作是 100%，系数被忽略了)。

$$\Psi_l = \int_0^T I \phi_p dt \quad (3.2)$$

在这些因素中，水中有效光强取决于水体透明度与太阳辐射，可以用朗伯比尔定律表示，如式(3.3)所示；另一方面，如果忽略细胞中气囊的调节作用，水体垂直对流过程显著的影响了浮游藻类细胞的垂直位置。由于水体的混合过程相对较快，在一天中细胞在各水体垂直位置上的停留时间可以看作是均匀分布的，因此藻细胞的迁移模型从而可以看成是垂直方向上的匀速运动。基于此，

Ψ_l 可以用式(3.5)表示。

$$I = I_0 \exp(-kz) \quad (3.3)$$

$$z = \frac{z_{mix}}{T} t \quad (3.4)$$

$$\Psi_l = \int_0^T I_0 T \exp(-kt \frac{z_{mix}}{T}) \varphi_p dt \quad (3.5)$$

其中 I_0 表征水体表层的光强，而 k 则表示水体的消光系数。鉴于透光层(z_{eu})的定义，即在水深为 z_{eu} 处的光强为表层水体光强的 1%，消光系数 k 便可以求出，如式(3.6)(3.7)所示。

$$1\%I_0 = I_0 \exp(-kz_{eu}) \quad (3.6)$$

$$k = -\frac{\ln 0.01}{z_{eu}} \quad (3.7)$$

对于浮游藻类的光照时间(T_v)，在本研究中考虑了两种情况，主要是基于在不同的 z_{mix}/z_{eu} 下浮游藻类的不同行为。第一种情况： $z_{mix} > z_{eu}$ ，其主要特征是藻细胞在白天可能会进入到无光区而不能进行光合作用。根据之前的假设，这个比例实质上就是透光区深度/混合深度比值。而公式最终形式为 (3.10)由式 (3.8)和 (3.9)推算出来。

$$T_v = \frac{z_{eu}}{z_{mix}} T \quad (3.8)$$

$$\Psi_l = \int_0^{\frac{z_{eu}}{z_{mix}} T} I_0 \exp(-kt \frac{z_{mix}}{T}) \varphi_p dt \quad (3.9)$$

$$\Psi_l = 2.150 I_0 T \varphi_p \frac{z_{eu}}{z_{mix}} \quad (3.10)$$

第二种情况， $z_{mix} \leq z_{eu}$ ，这种情况正好相反，由于水体混合层深度小于透光层厚度，细胞只能在透光层中移动，因此，细胞则可以在白天持续接受光照。其公式的最终形式为式(3.13)。

$$T_v = T \quad (3.11)$$

$$\Psi_l = \int_0^T I_0 \exp(-kt \frac{z_{mix}}{T}) \varphi_p dt \quad (3.12)$$

$$\Psi_l = 0.2171 I_0 T \varphi_p \frac{z_{eu}}{z_{mix}} (1 - \exp(-\frac{4.6052 z_{mix}}{z_{eu}})) \quad (3.13)$$

实际上， $I_0 T$ 为日总太阳辐射强度，其大小具有严格的季节性，可以用 $\sin\theta$ 来表征。令 $\rho = z_{mix}/z_{eu}$ ， $I_0 T = \beta \sin\theta$ ，则两个公式可以合并成一个如式 (3.14)所示。

其中，

$$\Psi_l = \beta \lambda \quad (3.14)$$

其中：

$$\lambda = 2.150 \rho^{-1} \quad \rho > 1 \quad (3.15)$$

$$\lambda = 0.2171\rho^{-1}(1 - \exp(-4.605\rho)) \quad \rho \leq 1 \quad (3.16)$$

光合作用将太阳能转化为化学能并以糖或者其他有机物的形式存储在细胞体内，并用以驱动浮游藻类中所有的生理过程并维持细胞体对应的生物量。假定单位体积的藻细胞消耗的能源相同($V = K\Psi_1$)，模型最终可以表示为式(3.17)。

$$V = k\lambda \quad (3.17)$$

其中 $k = K\beta$ 。实际上，如果将藻细胞当作是一个椭球体($a = b > c$, a :长半轴 c :短半轴)，该模型在某种程度上具有确切的几何意义。在这个几何模型中，模型体积 V 代表藻细胞生物体积， φ_p 为相平面面积($\varphi_p = \pi ab$)。根据椭球体体积计算公式($V = 4 \pi abc$)，可以推出 $k\lambda = 4c$ 或者说， $1.5k\lambda$ 可以被认为藻细胞的高度，即椭球体的短轴($2c$)。

椭球体的扁平率(f)的定义如式(3.18)所示，在本研究中它被用来描述藻细胞的形态。具有较小扁平率的藻细胞形状接近球形，比如微囊藻(*Microcystis* sp.)，相反具有较大扁平率的藻细胞则接近饼状，如盘星藻(*Pediastrum* sp.)。

$$f = \frac{a-c}{c} \quad (3.18)$$

$$a = \sqrt{\frac{\varphi_p}{\pi}} \quad (3.19)$$

$$c = 0.75k\lambda \quad (3.20)$$

2.7.6 模型验证

2009 年在洋河水库共采集了 53 个样品，并用以验证提出的模型(式(3.9))。在所有样品中，发现水体中 $z_{mix} \leq z_{eu}$ 的情况主要出现在 7 月份和 8 月份，而 $z_{mix} > z_{eu}$ 的情况则主要出现在别的季节，其中最高值($z_{mix}/z_{eu} > 3$)在 10 月份的深水区(包含 YH06、YH07、YH08)处被观测到，如表 3.7 所示。另外， z_{mix}/z_{eu} 的在浅水区(包含 YH03、YH04、YH05)和深水区(包含 YH06、YH07、YH08)的变化幅度显著不同($p < 0.05$)。 λ 则通过式(3.8)计算得出。

表 3.10 洋河水库中混合层深度/透光层深度(z_{mix} / z_{eu})变化

Date	Mar 19	Apr 21	Jun 26	Jul 08	Jul 22	Aug 12	Aug 21	Sep 28	Oct 27	Var.
NC	1.00*	1.00*	0.83	0.98	0.41	0.70	1.10	0.76	0.98	0.046
ER	1.16	1.50	0.58	0.93	0.78	0.81	0.96	0.89	1.23	0.076
WR	1.00*	1.00*	0.39	0.90	0.63	0.63	0.76	1.14	1.35	0.088
RC	1.80	2.17	1.39	0.54	0.14	0.23	0.56	0.85	3.60	1.264
SD	0.48	1.45	1.13	0.32	0.28	0.52	1.55	1.88	3.13	0.873
WI	2.16	1.52	1.56	0.26	1.14	0.80	0.83	4.17	3.64	1.752

* where the water column was well mixed ($z_{mix} = z_{max}$), and well illuminated ($z_{eu} = z_{max}$).

图 3.14 中显示了 $\lambda\varphi_p$ 与 V 之间的关系。可以看出，除了一个异常点以外，所有数据均可以被提出的模型式(3.9)很好的解释，模型的参数结果见式(3.21)。关于在 3 月份 YH07 处产生的异常点，



原因目前还不清楚。

$$V = 37.92\lambda (= 0.673, p < 0.01) \quad (3.21)$$

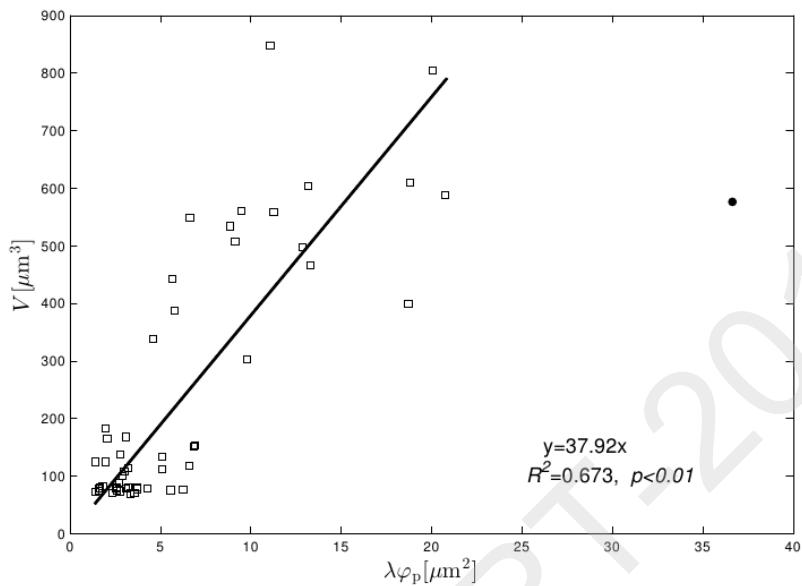


图 3.44 模型拟合：不同环境因子下(太阳辐射、水体垂直混合过程)藻细胞形态的变化

2.7.7 结果分析

根据模型的结果，为避免由于模型误差引起的负值，采用了转换扁平率($f' = e'/e$)来替代扁平率，如图 3.15(上)所示。同时，转换扁平率(f')与 $\log(\varphi_p)$ 的关系如图 3.15(下)所示。一般来说，扁平率 f 和细胞投影面积 φ_p 是两个藻细胞极为重要的形态学参数，尤其有利于研究藻细胞的光获取能力。 φ_p 反映了有效辐射面积(effective radiated area, ERA)，与细胞的光获取能力相关；相反，扁平率 f 实质上是 φ_p/V 比值，反映了细胞的能量需求；扁平率小的藻细胞接近球状，生物体积较大，能量需求较高，相反，扁平率大的藻细胞能量需求地。

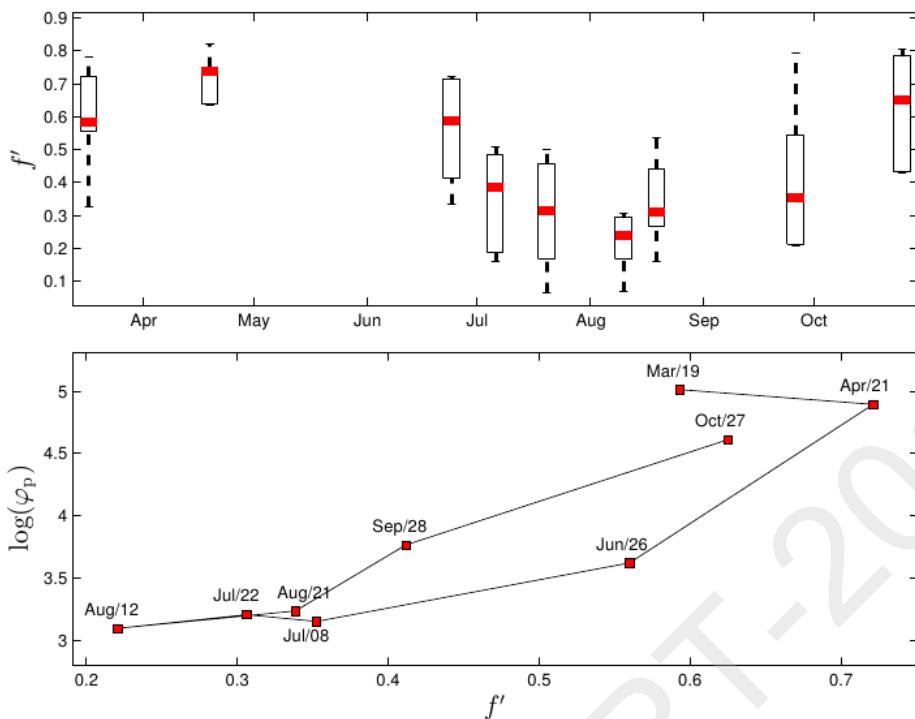
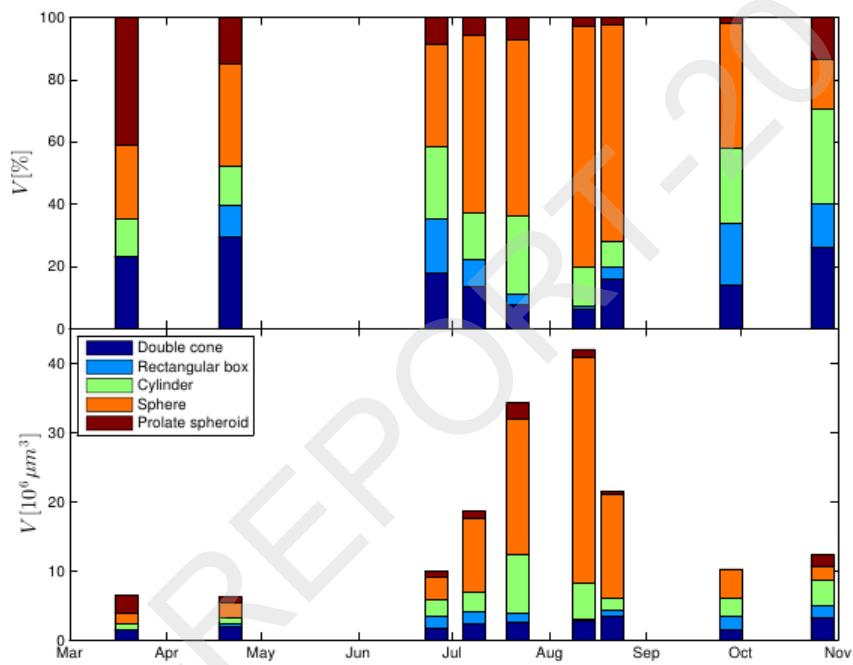


图 3.45 洋河水库中藻类群落结构的转换扁平率($f' = e^f/e$)季节动态变化(上); 通过 $\log(\varphi_p)$ 和 f' 两个参数阐述浮游藻类形态演替(下)

浮游藻类生物群落的生态行为可以看成是来自光和营养盐动态变化的环境选择压力的结果。在 3 月份和 4 月份, 由于太阳辐射较弱, 并且水体垂直交换能力强, 藻细胞能够进入底层无光区, 因此吸收的总有效辐射较低^[82]。在这段时期, 光限制浮游藻类的生长, 以至于藻细胞生物量的增长可以忽略不计, 从而水体中营养盐含量维持在较高水平。其中有一些藻种由于具有较大的投影面积(φ_p)和扁平率(f), 从而拥有较好的光获取能力而被环境选择(图 3.16); 于是, 水库中藻类群落由细胞较大的类似饼形的藻种主导, 包含多甲藻属(*Peridinium* sp.), 库津新月藻(*Closterium kuetzingii*), 颗粒直链藻(*Aulacoseira granulata*)以及脆杆藻 (*Fragilaria* sp.), 如表 3.4 所示。随着太阳辐射与水温的不断升高, 水库从 6 月份出现热分层, 并且藻类开始轻度爆发; 具有较小投影面积和较大扁平率的藻细胞包含舟形藻(*Navicula* sp.)以及角甲藻属(*Ceratium hirundinella*)等等在这段时期生物量较高。在藻类爆发开始后不久, 表层水体中太阳辐射非常充足, 同时大部分营养盐就被固定在藻细胞体内。这种营养盐限制型环境适合具有高比表面积的藻细胞生长, 而与光获取能力相关的投影面积和扁平率则变得次要, 因为比表面积大的藻细胞表明单位体积的生物量能够吸收更多营养盐。因而, 在天然水体中, 很难在夏季时期出现细胞体积较大的藻种爆发, 在本研究中, 为铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)和惠氏微囊藻(*Microcystis wesenbergii*)占主导地位。表层营养盐在夏季藻类爆发期间被大量消耗, 接下来的几个月中, 随着温度的下降, 水体的热分层现象开始瓦解^[87], 水体垂直对流能力加强, 底层营养盐开始扩散至水体表层从而补充了表层营养盐。同时, 太阳辐射强度开始逐渐下降, 这种环境则有利于光获取能力强的藻细胞, 其生物量的增长可持续到太阳光强降至限制其藻细胞生长的水平。因而, 具有较大扁平率 f 和投影面积 φ_p 的藻细胞包含针杆藻(*Synedra* sp.)和小环藻

(*Cyclotella* sp.)在这段时期成为了水库的优势藻。以一年为周期的藻类形态季节性动态变化能够用投影面积(ϕ_p)和扁平率(f)描绘出来,如图 3.15(下)所示。总体来说,尽管模型的建立是给予光限制型的环境,浮游藻类群落结构变化能够很好的被提出的模型解释。但是,在以后的研究中,还需要考虑到与时间相关的动态资源限制型环境中藻类形态的变化。

实际上,大多数的环境因子或直接或间接与太阳辐射的季节循环变化相关联,于是来自环境的选择压力进而推动了浮游藻类形态的季节性动态变化。如图 3.16 所示,在光照强度大而营养盐不充分的环境条件下,有利于细胞体积小且是球形或类似球形的藻细胞生长,相反,藻细胞接近饼形的且直径较大的藻种则有利于在光限制型的环境中生长。



注: 上: 生物量百分比; 下: 绝对生物量

图 3.46 洋河水库中藻类群落形态季节分布

2.7.8 模型展望

在模型构建过程中,目前选择性的忽略或简化了一些过程:比如用 $\sin \theta$ 简单的替代了日总太阳辐射,而这在以后的研究中可以考虑云的覆盖指数来得到更好的表示方法;另外,模型也忽略了风对水体混合过程的影响,以及蓝藻细胞中气囊对藻细胞在水体中垂直位置的调节也忽略了。在夏季藻类爆发期间,成团的藻类被简化为分散的单细胞藻类,而忽略了藻细胞重叠对光照吸收的影响,从而高估了单位生物体积获取光能的能力;并且,目前的方法也忽略了浮游动物捕食藻类带来的影响。因此,在以后的研究中可能需要建立一个更为复杂一些的模型,并考虑一些重要的过程对藻类种群结构和形态的影响。



2.8 小结

本章的工作主要构建了一个模型，用于描述在营养盐充足的封闭水体中，太阳光照对浮游藻类形态变化的影响，并用 2009 年在洋河水库采集到的藻类数据验证了模型的可行性。根据模型的结果，揭示了藻类种群的投影面积分布具有显著的季节性：在春季和冬季，水库中主要以细胞投影面积和扁平率均较大的藻种为主，而在夏季，投影面积和扁平率均较小的藻细胞具有绝对优势。然而，由于部分参数和过程的简化导致模型也具有一定的缺陷。此外，模型只讨论了营养盐充足的水体环境，而在营养盐限制型水体中藻类形态变化的讨论也非常 important。

第三章 底栖藻生长及其产嗅规律-密云水库为例

3.1 密云水库水文及水质特征

3.1.1 前言

密云水库是我国饮用水源中得到最严格保护的水体，总体上水质良好，除总氮等个别指标外，属于Ⅱ类水体，处于中营养状态。根据杜桂森等在1987-1988年的调查发现，密云水库的藻类主要为绿藻，总量小于 $3,000 \text{ cells mL}^{-1}$ ，其藻类组成为绿藻-硅藻型，蓝藻比例很低，主要是微囊藻和颤藻^[88]。1996-1997年的调查发现，藻总量超过了 $4,000 \text{ cells mL}^{-1}$ ，虽仍为绿藻-硅藻型，但蓝藻的比例较10年前有较大增加，夏季蓝藻比例达到15%左右^[89]。2001-2002年的调查表明，在9月份密云的藻密度接近 $30,000 \text{ cells mL}^{-1}$ ，蓝藻的比例接近40%，并出现局部微囊藻水华现象^[90]。由此可见，密云水库的藻类多样性比较丰富，但出现了蓝藻比例逐步上升的现象。2002年、2005年以密云水库为水源的饮用水相继出现持续一定时间的嗅味问题，特别是2005年9-10月的嗅味事件中，取水口MIB最高含量达到 175 ng L^{-1} ，引起了供水部门的高度关注。但是，在这样一个水体总体水质良好、并没有出现大面积蓝藻水华现象的水库中为什么会出现高浓度的MIB一直没有一个合理的解释。因此有必要开展蓝藻种群动态调查，掌握蓝藻种群组成随季节、环境水质条件等变化的规律；确定主要致嗅蓝藻的种属；探究有害代谢物产生的机制以及促发因子。从而为保障首都的供水安全提供基础科学依据，为密云水库水质预测预警提供重要的数据资料。

在2007-2008年间，和密云水库管理处合作，在库区内8个主要站点开展了初步的调查；从2009年开始，优化对水库的调查，主要集中在蓝藻爆发高风险季节，并重新设计采样点，增加了对高风险区的采样点数量，更加全面的分析水库水质、藻类群落结构、藻类种群动态、有害代谢物类型和浓度。探讨了密云水库藻类种群动态规律，有害代谢产物的产生机制，为密云水库的水质管理和以其为水源的自来水处理提供技术支持。

3.1.2 密云水库简介

密云水库位于北纬 $40^{\circ} 23'$ ，东经 $116^{\circ} 50'$ ，是华北平原最大的山谷水库。水库最大蓄水量43.75亿 m^3 ，相应水面面积 188 km^2 ，最大水深43.5 m。平均年径流量9.844亿 m^3 ，年供水量7.725亿 m^3 。入库河流主要有潮河和白河两大支流，分别发源于河北省承德地区和张家口地区，潮白河流域受密云水库控制的面积 $15,788 \text{ km}^2$ 。密云水库设计主要功能是防洪、灌溉、发电和养鱼等，但从1982年开始专为北京市提供生活用水，其向北京供水有两个途径：110 km的京密引水渠是水库向北京输水的主要途径，引水渠穿过怀柔水库后达到终点颐和园团城湖；第二途径是九松山输水隧洞连接70 km长的地下管线到北京第九水厂，日输水能力100万吨。密云水库近20年对北京市区年供水量4亿 m^3 左右，北京市区60%的饮用水来自密云水库，其水质情况对首都人民的生活和经济发展有

重要意义。从 1998 年后，水位一直下降(图 4.1)，到 2004 年只剩下 7.5 亿 m^3 ，同时潮白河的来水量也锐减，很多年份不到 1 亿 m^3 。当前密云水库蓄水量已接近死库容，营养盐浓度明显增加，库区总磷、总氮超湖库 II 类标准的现象也在逐步增加。

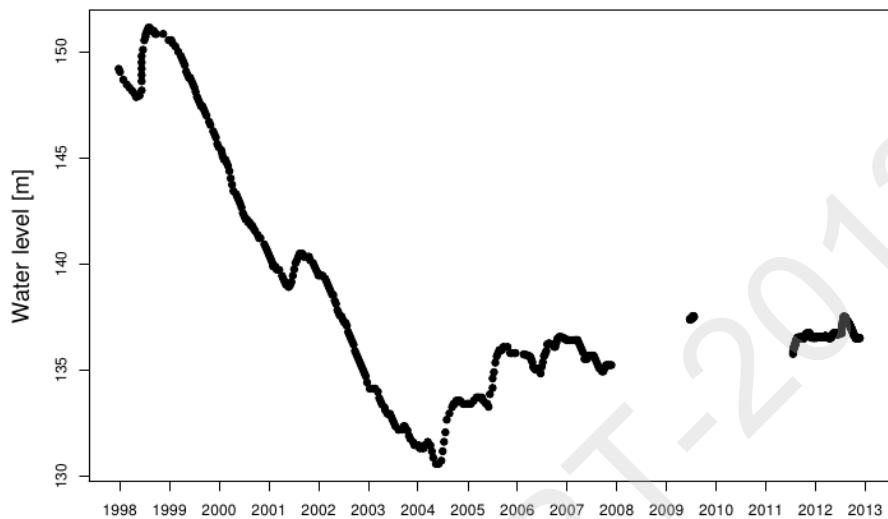


图 4.1 密云水库水位变化

3.1.3 地形

近年来，由于密云水库水位不断下降，水库水面面积不断减少，本研究中调查的最新地图如图 4.3 所示，与以前的地图相比较，库区中间出现很多岛屿，水库中间陆地部分明显变大。密云水库为山谷水库，水库边界形状和库底地形均非常复杂，水库西区和东区之间的连接主要依靠北部区域。利用多普勒声学剖面仪(ADCP)采集了密云水库的地形数据，如图 4.2 所示，可以将水库分为四个区域：西部深水区(WDR)，北部浅水区(NSR)，东北浅水区(NESR)，南部深水区(SDR)。西部深水区和南部深水区的最大深度(z_{max})约为 36 m，平均水深为(z_{ave})大于 20 m，而北部浅水区的最大深度约为 10 m，平均深度为 6 m，东北浅水区最大深度为 14 m，平均深度小于 5 m;密云水库的来水主要为白河和潮河，出水主要为座落在南部深水区的水九取水口，供给北京市自来水厂。

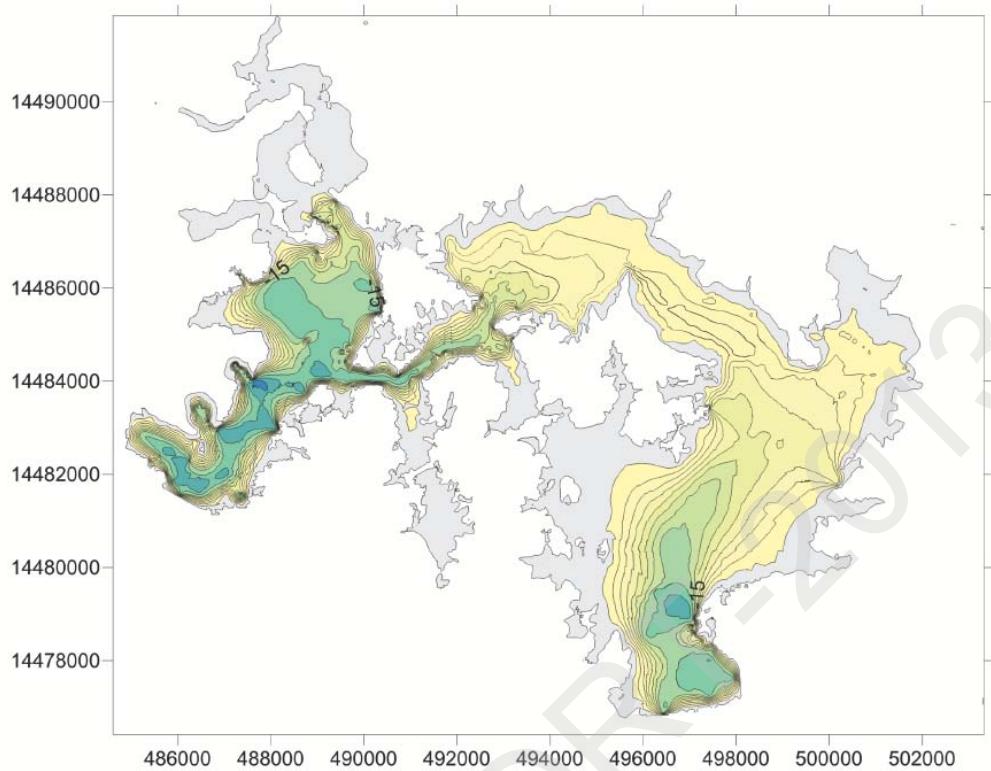


图 4.2 密云水库库底地形等高线图

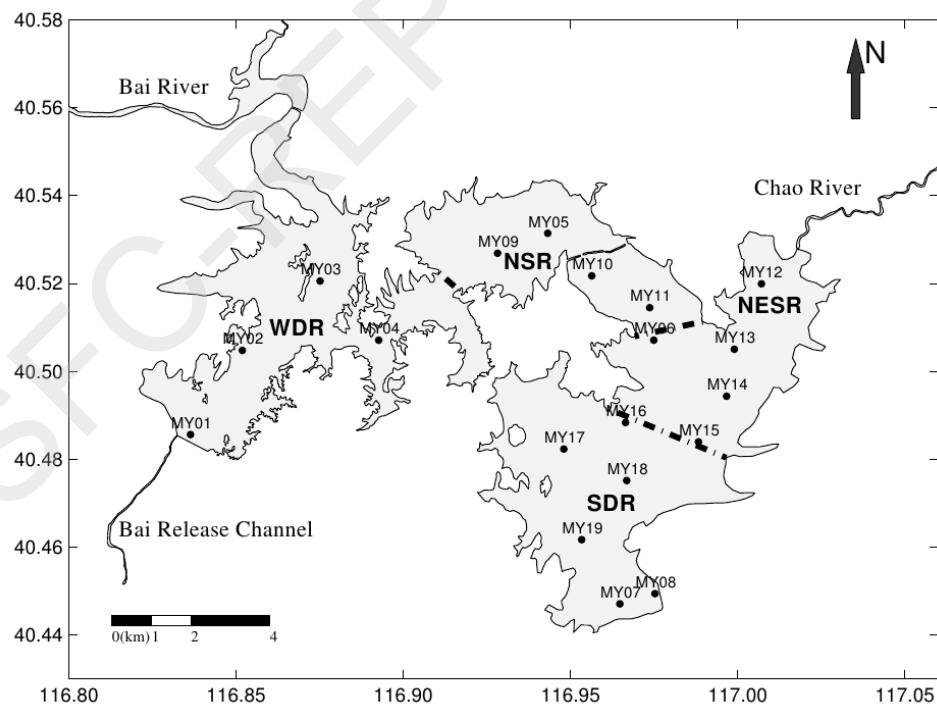


图 4.3 密云水库地图和采样点示意图

3.1.4 采样

根据密云水库地形和多年调查的结果，在本研究中，在北部浅水区和南部深水区增加了许多采

样点，其中，西部深水区包含 MY01, MY02, MY03 和 MY04，北部浅水区由原来的一个点(MY05)增加了 3 个点(MY09, MY10, MY11)，东北浅水区由原来一个点(MY06)增加了 4 个点(MY12, MY13, MY14 和 MY15)，南部深水区由原来两个点(MY07, MY08)增加了 3 个点(MY17, MY18, MY19)，其位置如图 4.3 所示，具体的经纬度信息如表 4.1 所示。从 6 月到 11 月大约每月采样一次，在藻类爆发高风险期和嗅味物质浓度超标风险期加密采样，1 - 2 周采样一次。样品分层采集，表层水样大约在水面下 0 - 0.5 m 处，深水区底层水样为水面下 15 m 处，浅水区域为底泥上约 0.5 m 处，深水区中层水样采自水面下 8 m 处，浅水区为水面下 5 m 处。样品采集后装入棕色玻璃瓶中，并尽可能保持低温，直至回实验室后前处理。

表 4.1 密云水库采样点信息

Site	Latitude	Longitude	Zone	Site	Latitude	Longitude	Zone
MY01	40°29.1366'	116°50.1848'	WDR²	MY11	40°30.8684'	116°58.4237'	NSR
MY02	40°30.2860'	116°51.1148'	WDR	MY12	40°31.1945'	117°0.4253'	NESR
MY03	40°31.2334'	116°52.5099'	WDR	MY13	40°30.3015'	116°59.9401'	NESR
MY04	40°30.4258'	116°53.5613'	WDR	MY14	40°29.6600'	116°59.8010'	NESR
MY05	40°31.8857'	116°56.5940'	NSR³	MY15	40°29.0350'	116°59.2980'	NESR
MY06	40°30.4258'	116°58.4945'	NESR⁴	MY16	40°29.2997'	116°57.9890'	SDR
MY07¹	40°26.8224'	116°57.8879'	SDR⁵	MY17	40°28.9380'	116°56.8820'	SDR
MY08	40°26.9622'	116°58.5147'	SDR	MY18	40°28.5076'	116°58.0093'	SDR
MY09	40°31.6139'	116°55.6943'	NSR	MY19	40°27.6990'	116°57.2020'	SDR
MY10	40°31.3033'	116°57.3825'	NSR				

¹ 取水口附近 ² 西部深水区 ³ 北部浅水区 ⁴ 东北浅水区 ⁵ 南部深水区

采样同时用浮游生物网捞取藻类保存于细胞培养瓶(Corning, USA)中，用于藻类鉴定和定性分析。同时用多参数水质仪(YSI 6600v2)进行垂直剖面水质分析，以及水库表层水质分析，主要包含水温、溶解氧(DO)、pH、盐度、叶绿素- α 、浊度等等。此外，用透明度盘(直径: 20 cm, 黑/白色)测定水体透明度。

3.1.5 气象与水文

密云水库控制的流域是目前首都北京最主要的地表生活用水水源保护地，该流域是由注入密云水库的潮白河水系组成，流域面积为 15,788 km²。境内西北部多以海拔 1,000–2,293 m 的中山为主，东南部多为低山、丘陵，部分平原、河滩地分布在河流的两侧，山地面积占总面积的 2/3 以上。密云水库以上的潮白河流域 1/3 面积在北京市境内，2/3 面积在河北省境内。流域具有大陆性季风气候特点，寒暑交替，四季分明^[91]；流域内北京地区平原区年平均气温为 11–12°C，日均气温在-10–30°C 之间，如图 4.4(上)所示，最高气温通常在 6 – 8 月份出现，最低气温通常在 1 月份出现。多年平均降水量为 610 mm^[91]，多集中在汛期(6 – 9 月)，约占年降水量的 85%，如图 4.4(中)所示。2012 年 7 月 21 日，一场罕见的暴雨(图 4.4 中)使密云水库入水量在 7,100 – 7,500 万 m³ 之间，相当于 35

个昆明湖，水位上升了 67 cm 左右，如图 4.5 所示。由于密云水库大面积水域蒸发效果，密云地区相比北京城区相对湿度(Relative humidity, RH)要高，与气温一样，最大相对湿度通常在 6 - 8 月份出现，最小相对湿度在 1 - 2 月份出现，如图 4.4(下)所示。

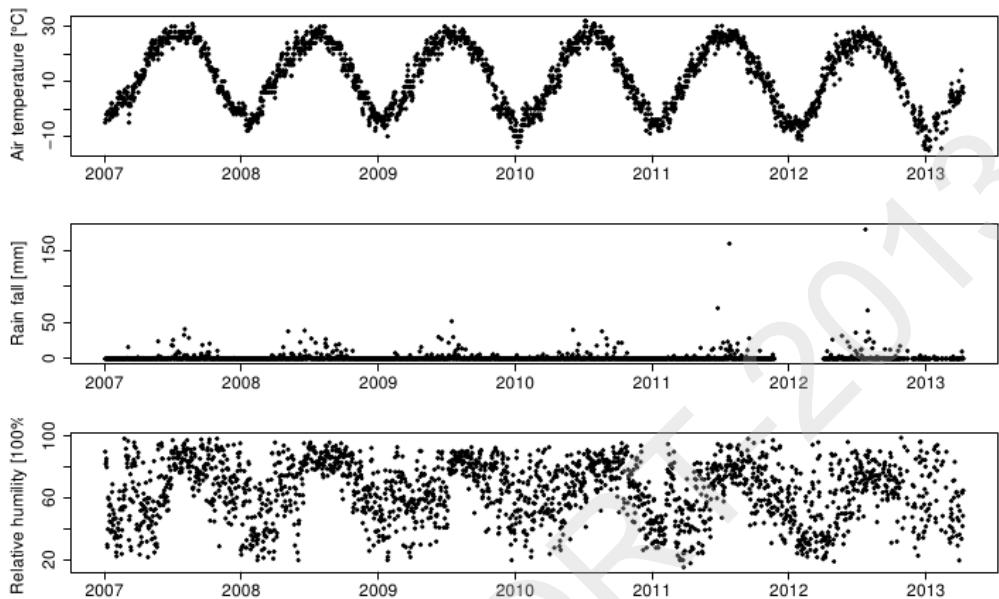


图 4.4 密云地区 2007 - 2013 年气象资料，上：气温，中：降雨量，下：相对湿度

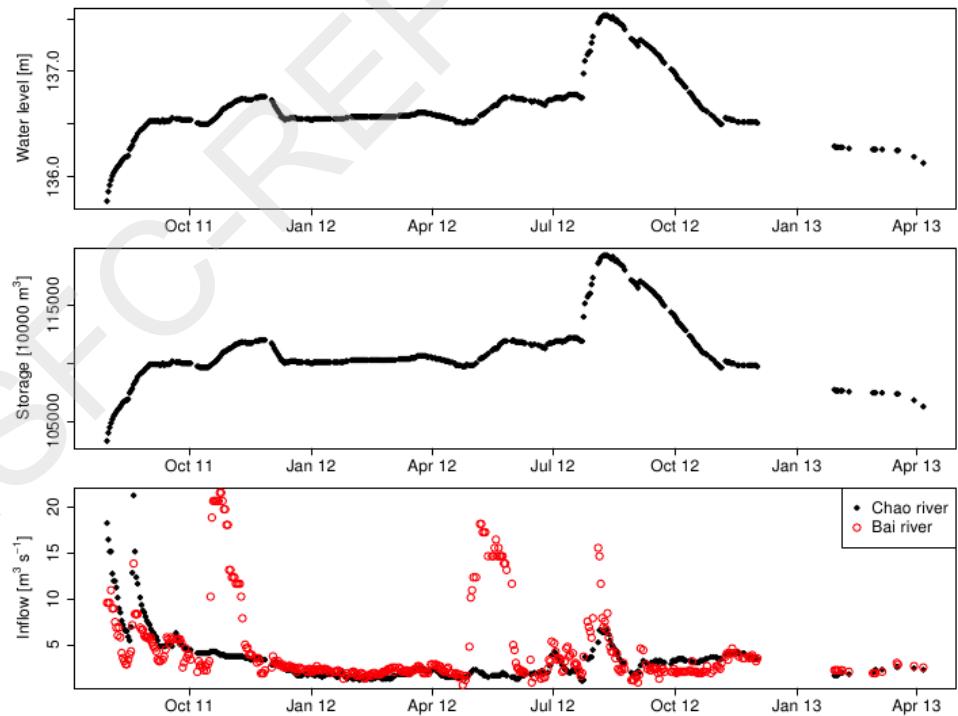


图 4.5 密云水库水文资料

在过去 30 年中，密云水库入径流量不断减少^[91]，原因主要是因为下垫面变化和气候变化引起降水的减少^[92, 93]。潮白河流域气候变化对入库径流的影响贡献率潮河为 25%，白河为 45%。此外，

白河的径流量季节变化较大，主要集中在夏秋季节，而潮河相对比较稳定，但在冬季和春季时入库流量比较小，约 $0 - 2 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ 。

风在一定程度上会影响水库混合层的深度，而风向会影响水库热量分布。图 4.6 为密云地区 2007–2013 年风速风向玫瑰图，分为春夏秋冬四个季节，可以看出，风向主要以北风和东风为主，其中，风速大于 6 m s^{-1} 时基本上为北风和北东北风为主；从风速来看，季节性较强，春季和冬季风力大风的频次要高一些，而夏季，静风天气相对要多一些。

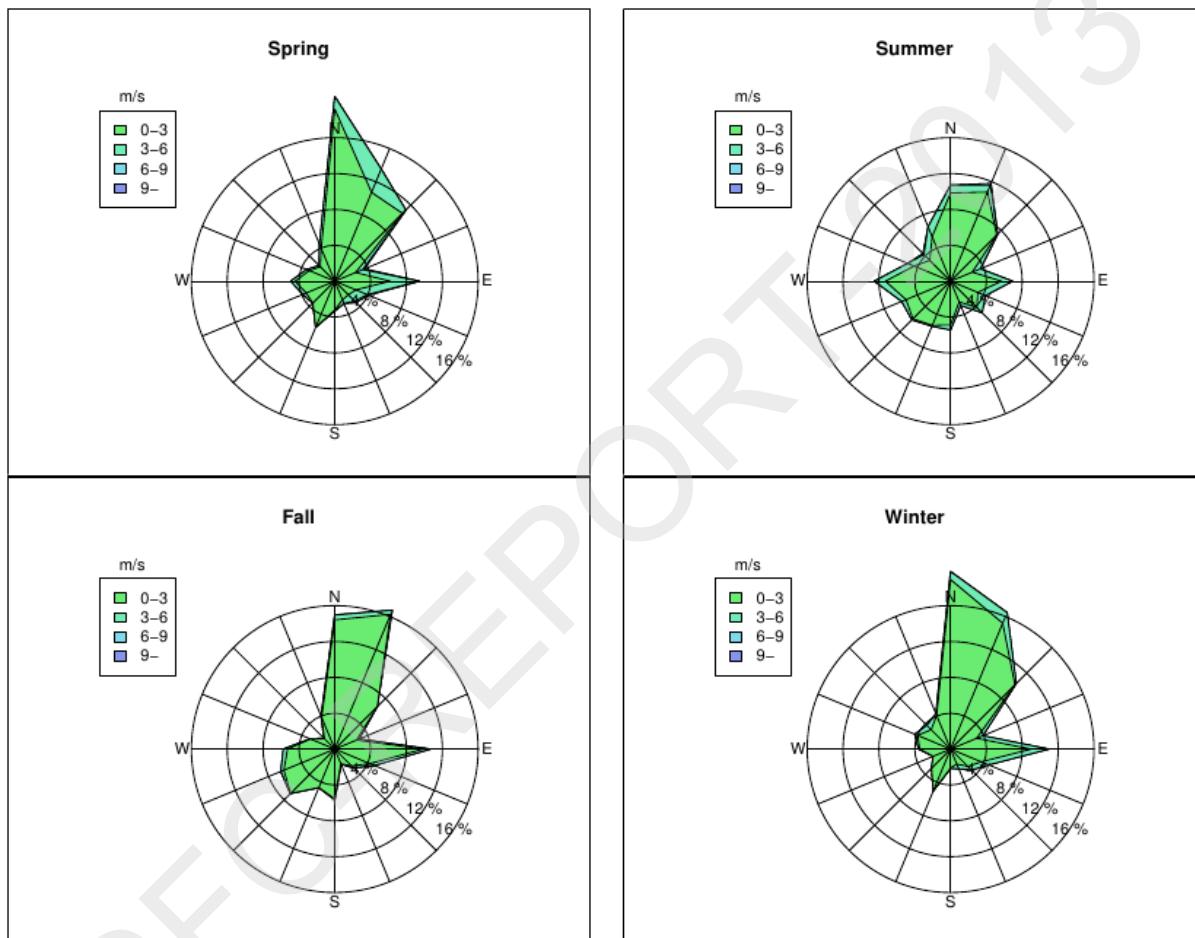


图 4.6 密云地区 2007–2013 年季节风速风向玫瑰图

3.1.6 水温时空分布以及混合层变化

水温是水生生态系统最为重要的因素之一，它对水生生物的生存、新陈代谢、繁殖行为以及种群的结构和分布都有不同程度的影响，并最终影响着水生生态系统的物质循环和能量流动过程、结构以及功能。有研究表明蓝藻在湖库中从冬季孢子形态复苏的温度略高于绿藻和硅藻，但是蓝藻在复苏后的比生长速率高于绿藻和硅藻；蓝藻一般在高温水体中占优势，占优势的大量蓝藻水华形成的物质基础^[94]。

密云水库库容量为 43.75 亿 m^3 ，现有库存水容积大约 10–11 亿 m^3 ，而且水库深度较大，导致水库热容量很大。如图 4.7 所示，不同区域间表层水温差异很小，不超过 2°C 。从 2009 年至 2012

年多年多次多点测量结果综合来看，从 6 月份开始，到 9 月中旬结束，水库表层平均温度均超过 20°C，最高水库平均水温达到 28°C，出现在八月初，比其他小型水库要晚一些，这段时期非常适合蓝藻生长繁殖，为爆发高风险期；表层最低水温出现在 1-3 月冰封期在，为 1°C 左右，如图 4.7 所示。水库和湖泊的水力停留时间较长，水流相对比较缓慢，垂直交换较小。进入夏季高温时期时，表层水温由于吸收了大量太阳辐射水温迅速升高，因此表层和底层出现较大的温差，而且由于热水的密度小于冷水（水温大于 4°C），导致水体在垂直方向非常稳定，出现明显的热力分层现象（Stratification），在夏季深水湖泊中经常出现。从水体表面往下到一定深度，温度变化较小，垂直对流比较容易，称为混合层（Epilimnion）；在对流层以下，温度明显开始急剧变低，这一层成为变温层（Metalimnion）；在变温层以下直至库底，水温的变化也较小，成为均温层（Hypolimnion）。水库水体的层化现象阻止了表层和底层水体的交换，导致底层水体溶解氧浓度较低，不仅不利于水生生物生长，同时底层的厌氧环境可导致底泥中营养盐、铁和锰离子等的释放，成为水体的内源污染途径，而表层水体由于具有较高的水温，充足的阳光，非常有利于藻类等浮游生物的生长，而大量的藻类生长光合作用会消耗水体中的二氧化碳，导致水体 pH 上升，并产生大量氧气，导致表层溶解氧含量较高。水温垂直分布与水深关系密切，而能否出现分层现象对水体中许多生物物理化学过程有非常重要的影响，当水深较浅，不存在变温层，夏季水体不仅有充足的阳光和适合水温，还有底泥中释放的营养盐能通过垂直对流输送到表层水体，非常有利于藻类爆发，因此浅水湖泊、水库在夏季经常出现水华现象。

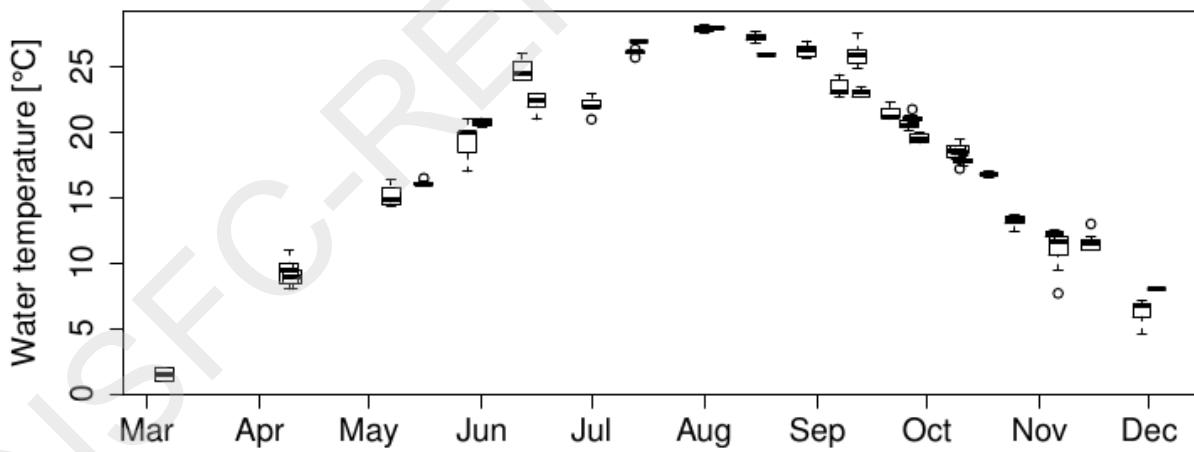


图 4.7 密云水库水温季节变化

图 4.8 为密云水库 6 月份至 10 月份期间浅水区(左, MY05)和深水区(右, MY08)垂直水温分布图。可以看出，浅水区夏季升温较深水区快，最高水温也比深水区高约 1-2°C。另外，水库的层化现象非常明显，6 月份水体已经进入分层阶段了。浅水区的变温层深度大约为 6-8 m，深水区为 8-12 m 左右，变温层的突变温度随着表层水体温度而变化，最高 7 月中旬达到 28°C。在 9 月初，浅水区和深水区出现了非常大的不同，浅水区层化现象的消失，迅速加强了水体垂直对流，并补充了水体中各层的营养盐含量，而深水区仍旧存在变温层，阻止了底层营养盐的输送。九月下旬开始，密云水库水温发生迅速变化，表层水温降低 7-8°C 至 18°C 左右，水温的变化可能导致藻类群落结

构的变化，值得关注。到十月底，深水区的分层现象消失，但由于水温较低，约 10–14°C，已经不适应蓝藻的生长了。

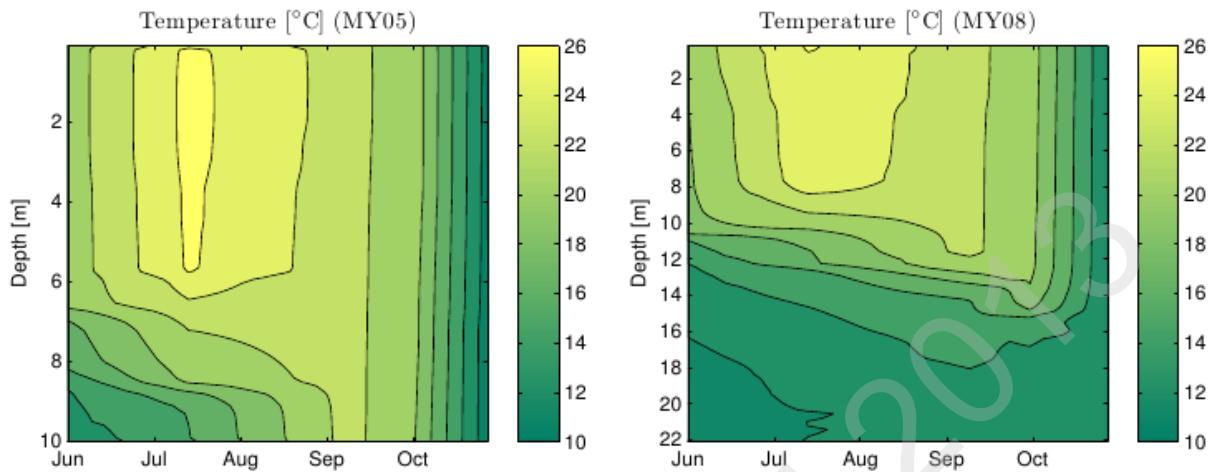


图 4.8 密云水库水温分布

3.1.7 透光层时空动态变化

水体透明度(Transparency)是指太阳光能透过水体的深度，国际上常用的测量方法为：用直径为 25 cm 的圆盘(分全白，黑白相间和全黑)沉到水中，直到看不见为止，圆盘在水中的深度就是水体的透明度，用 SD (Secchi Depth)表示。SD 值不能精确表征水体透明度，受光线条件，观察者视力，观测的角度和高度等影响，测量时，一般为同一测量者量测并尽量安排在上午 10 点 - 下午 1 点之间。一般说来，阳光能照的光亮带 - 透光区(Euphotic/Photic zone)的深度(Euphotic depth, z_{eu})为 2.5 倍 SD，有的学者也用 3 倍 SD。在透光区，由于有阳光照射，比较适合藻类生长，因此透光深度为水体的一个重要参数。当水体藻密度非常高时，其 SD 值较小，一般认为 $SD < 2 \text{ m}$ 的水体已经富营养化。

图 4.9 为密云水库 2009 年水体透明度季节变化，介于 1.0 – 3.5 m 之间，7 月份和 10 月末透明度在不同点位间差别较大，原因主要是浅水区适合藻类生长，透明度比较低，而深水区比较高。最高透明度出现在冬季和春季，大部分水体透明度接近 3.0 m，而 9 月初水体透明度达到最低，平均透明度约为 1.5 m 左右，其中北部浅水区的透明区为 1.1 m 左右，其他深水区透明度 2.1 m 左右。本研究同时分析了密云水库透明度较低时期的空间分布，如图 4.10 所示为 2009 年 9 月份三次调查的综合结果。可以看出，水库透明度的空间分布具有一定的规律，从西部白河大坝开始，水体透明较高，也是全水库最高的区域，往东经过 MY04 恒河，透明度开始下降，到北部浅水区金沟区域时，水体透明度明显降低，在东北部浅水区，由于潮河来水浊度相对偏高，进一步降低了水体透明度，为全水库透光层最浅的区域。继续往东南部潮河大坝走，透明度随水深增加而增加，到南部取水口区域，水体透明度再次达到较高水平。透明度的时空分析结果说明密云水库虽然整体水质较好，但浅水区等局部库区已经接近富营养状态，有可能出现局部短时间藻类爆发现象。

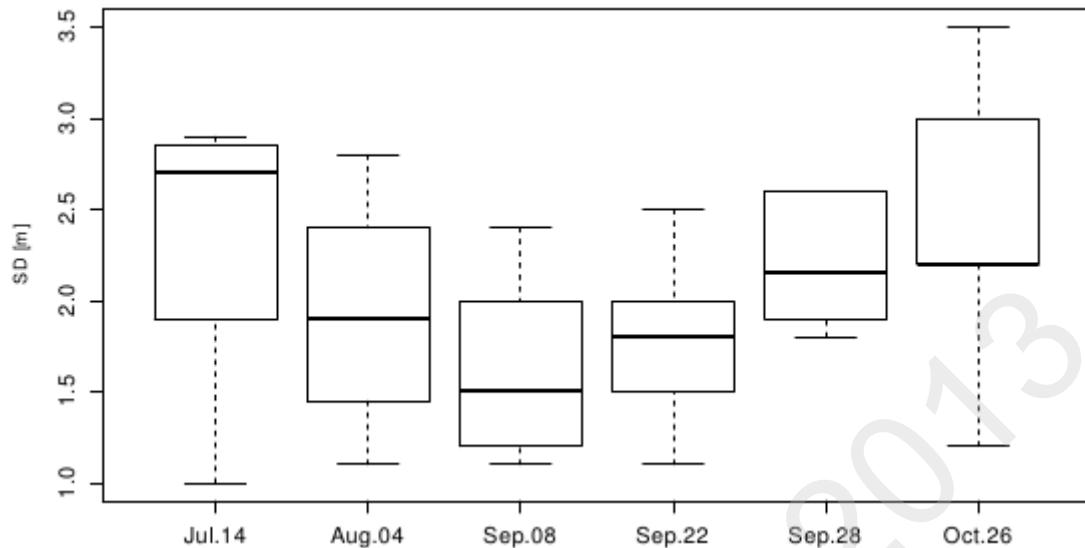


图 4.9 密云水库透明度季节变化

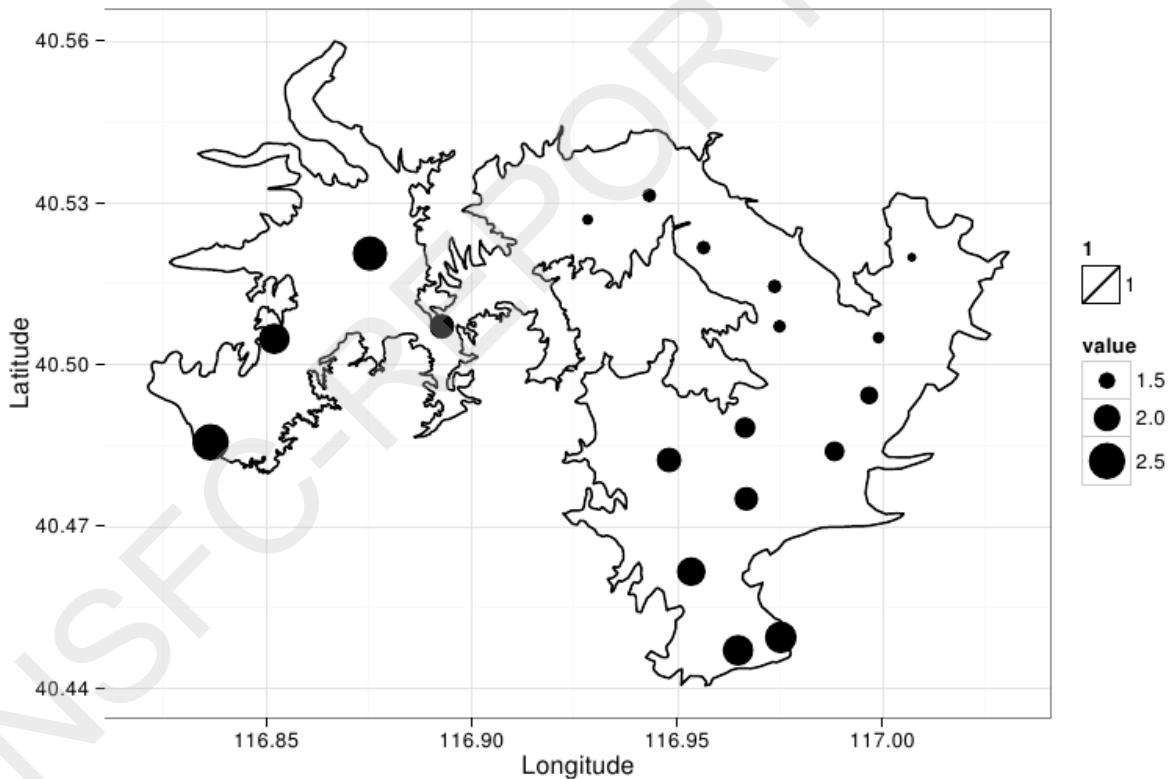


图 4.10 密云水库透明度空间变化

3.1.8 溶解氧时空分布

溶解氧(Dissolved Oxygen, DO)是空气中分子态氧溶解在水中的形态，其含量与空气中的氧分压、水温以及水体中光合作用生物的密度等密切相关。在自然情况下，空气中的氧分压比较稳定，因此水温是一个比较重要的因素，水温越低，水中溶解氧浓度越高。水中溶解氧的多少是衡量水体自净能力的一个指标。如图 4.11 所示，密云水库总体溶解氧水平在春季和冬季低温时期相对较高，这主

要和水温有关；夏季出现热分层现象的水体中溶解氧的垂直分布也非常不均匀：一方面，藻类等浮游生物进行光合作用产生氧气补充了混合层中溶解氧的含量；另一方面，由于细菌等在高温时期代谢活性高，对溶解氧消耗较大，因此底层水体基本处于厌氧状态。密云水库夏季混合层溶解氧变化不大，介于 $8\text{--}10 \text{ mg L}^{-1}$ 之间。密云水库深水区(MY08)底层溶解氧在热分层时期几乎为零，在秋末进入低温时期时，水体热分层逐渐消失，垂直对流使底层水体溶解得到迅速补充，因此可以看出深水区底部溶解氧季节变化比浅水区(MY05)要明显。和水温垂直分布一样，溶解氧也存在明显的突变层，其位置和温跃层相吻合。

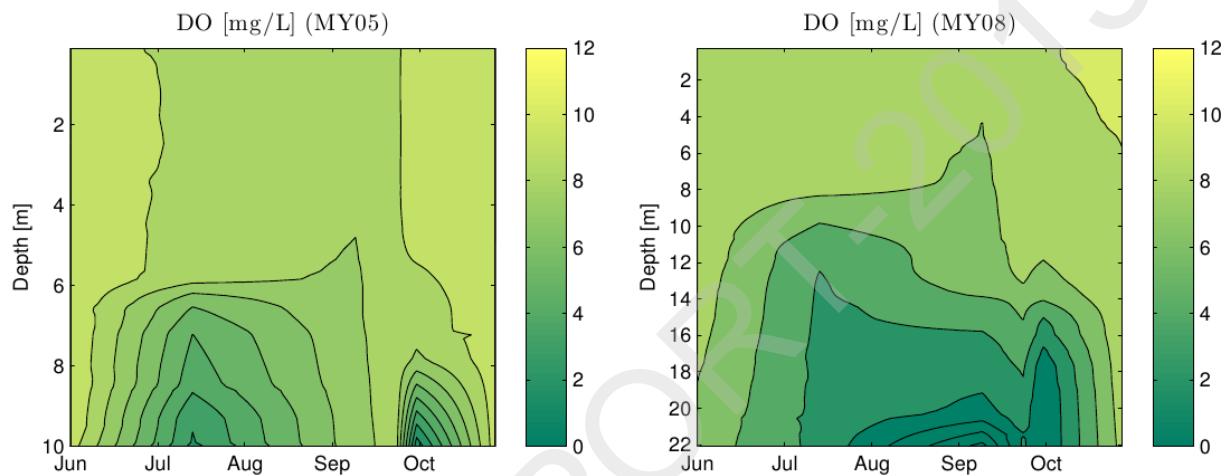


图 4.11 密云水库深水区与浅水区溶解氧季节变化

3.1.8.1 pH 时空分布

水体 pH 值与藻类生长关系非常密切，在碳源丰富的水体中，藻类光合作用影响 CO_2 缓冲体系，从而影响水体 pH 值。最常见的是藻类消耗大量 CO_2 引起水体 pH 上升，同时部分藻类对水体中有机酸的吸收和重碳酸盐的利用，也会引起 pH 的升高^[95]；而藻类呼吸作用过程中产生的 CO_2 溶于水中促进 H^+ 的生成，会引起 pH 下降^[96]。另外，水体酸碱度对藻类生长也有影响，例如碱性系统有利于捕获大气中的 CO_2 有利于藻类生长^[97]，因而较高的生产力经常出现在偏碱性的水体中^[98]。不同藻类适应的 pH 值范围不同，例如蓝藻能够在高 pH 的水体中生长，因此在夏季水体中出现蓝藻大量繁殖时，引起水体 pH 值升高不利于其他藻类生长，从而进一步巩固自己的主导地位。

在夏季，富含藻类的水体中，一天 pH 值变化幅度也不容忽视。一般来说，黑夜里由于没有光照，藻类进行呼吸作用释放大量 CO_2 ，因此上午往往为一天中最低 pH 值的时候，随着不断增强的太阳光，藻类光合作用吸收的 CO_2 多于呼吸作用产生的 CO_2 ，pH 值逐渐上升，到下午光照减弱，光合作用与呼吸作用相当时，水体的 pH 值达到最高。一天内 pH 值的变化范围还与水体的酸碱缓冲能力相关，当水体中富含碳酸根等离子时，缓冲能力强，有利于水生动植物的生长。因此在分析水体 pH 值日变化时，应该选择在一天中同一时段进行测定。

密云水库 pH 值有明显的季节变化，如图 4.12 所示，从 6 月份开始不到一个月时间，水体 pH 值由 7 左右迅速升高至 9 左右；在 7 月中旬达到最高，约为 10 左右，深水区(MY08)略高于浅

水区(MY05)，这可能是因为深水区水体酸碱缓冲能力不如浅水区所致。八月份开始，水体 pH 值开始慢慢下降，其下降的速度明显低于上升的速度。从水体 pH 值垂直分布情况来看，除夏季表层由于藻类消耗大量 CO₂，pH 值略高于底层以外，其他季节没有明显变化。

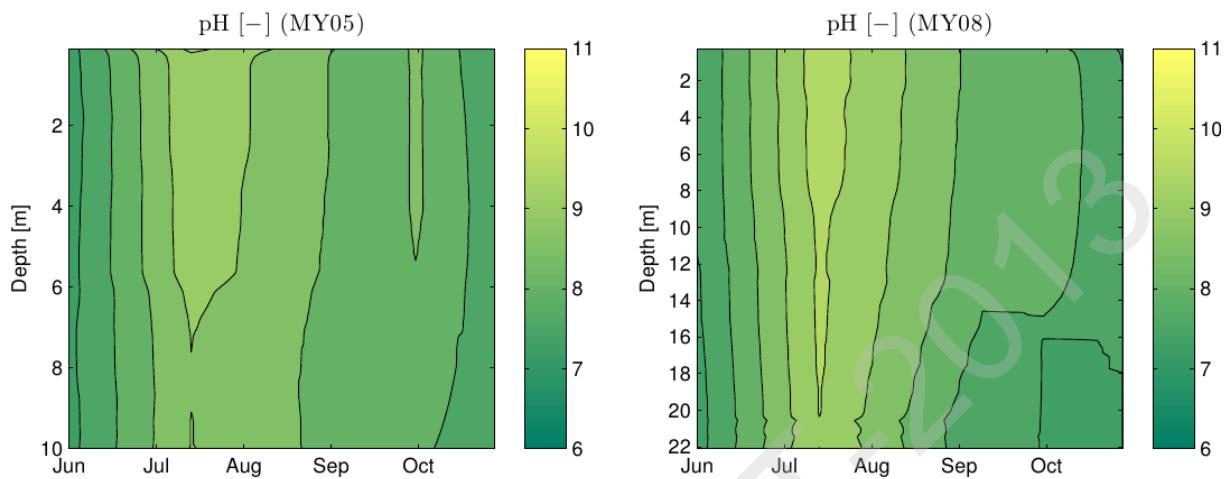


图 4.12 密云水库 pH 值季节变化

3.1.8.2 营养盐时空分布

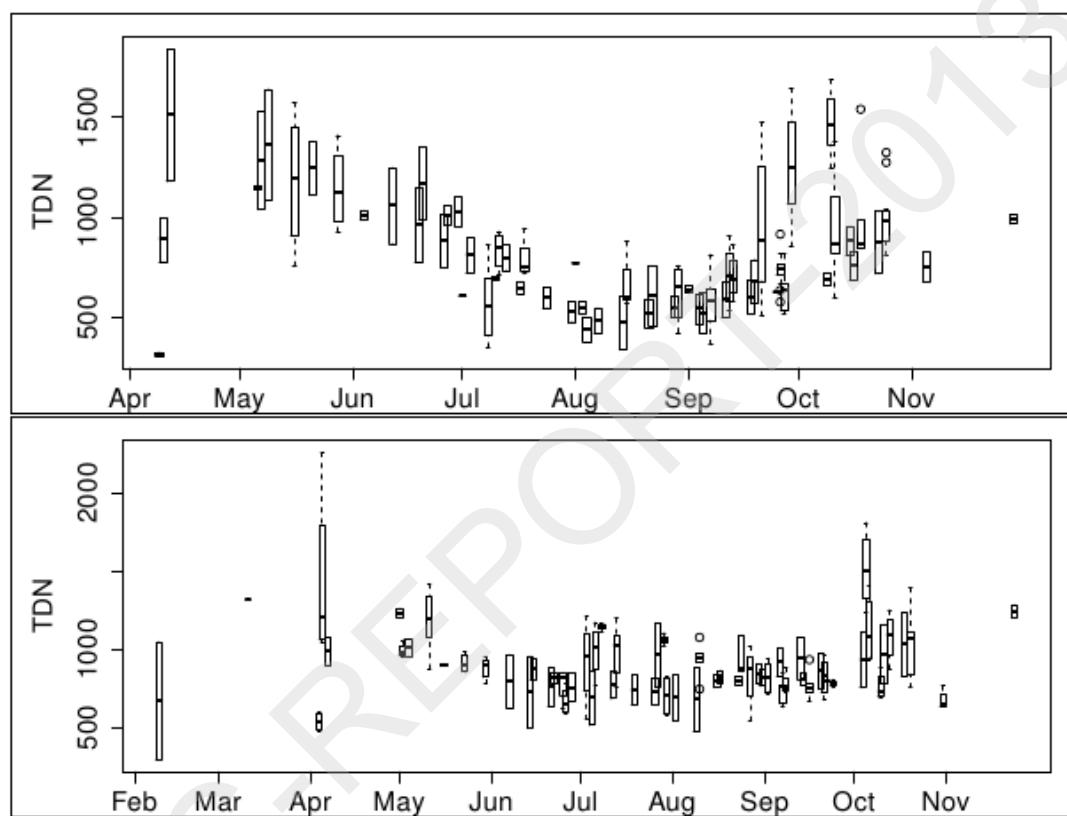
氮磷等营养元素的含量及其比例不但为湖泊生态系统的正常运转提供了必需的物质基础，对其初级生力和渔产力产生重要影响^[99]，而且还与湖泊生态系统的发育和营养演化密切相关^[11]。因而历年来为国内湖泊生态学研究所关注^[99, 100]，特别是在湖泊富营养化治理中。对于氮、磷究竟是控制哪一个更重要，更是引起生态学界的广泛关注甚至争议^[101, 102]。水体的营养盐含量，一方面通过上行效应对水生生物的分布与生长产生重要影响；另一方面其本身又会受到水生生物群落结构的强烈(下行)影响。水库水动力学与用水模式直接相关，不同功能的水库其用水模式相差较大，水库水动力学过程因此存在明显差异，从而导致营养盐时空分布和变化规律的明显差异，并进而对浮游植物的种类组成和数量变动产生显著影响。因此水库的富营养化防治必须依赖对水库营养盐分布格局及其影响因素的研究，密云水库作为我国典型的人工深水型山谷水库，其营养盐的时空分布与其社会功能、水生生物群落结构等有十分密切的联系。

水深对水体中营养盐的垂直分布非常重要，其原因包含能否形成变温层，是否大于透光区的深度等因素。密云水库库底地形非常复杂，根据水深将其划为两类分别进行分析：浅水区(包含北部浅水区-NZ 和东北区浅水区-NE)和深水区(西部深水区 WD 和南部深水区-SD)。对密云水库 2006 - 1012 年溶解性总氮(TDN)、三态氮(NH₄-N、NO₂-N、NO₃-N)、溶解性总磷(TDP)等的检测表明，水体中的总氮主要以总无机氮(TIN)特别是 NO₃-N 形式存在，占 TDN 的 70%左右，其次是铵态氮，而亚硝酸盐所占比重很小。

溶解性总氮图 4.13 和硝酸盐氮图 4.14 的季节变化基本一致，从四月份开始至八月份期间，浅水区呈现明显下降趋势。在浅水区，由于表层藻类密度从四月份开始逐渐上升，同时也消耗了大量的硝酸盐，并且由于水体存在热分层现象，阻碍了底泥中释放的硝酸盐扩散到表层，因此到八月份

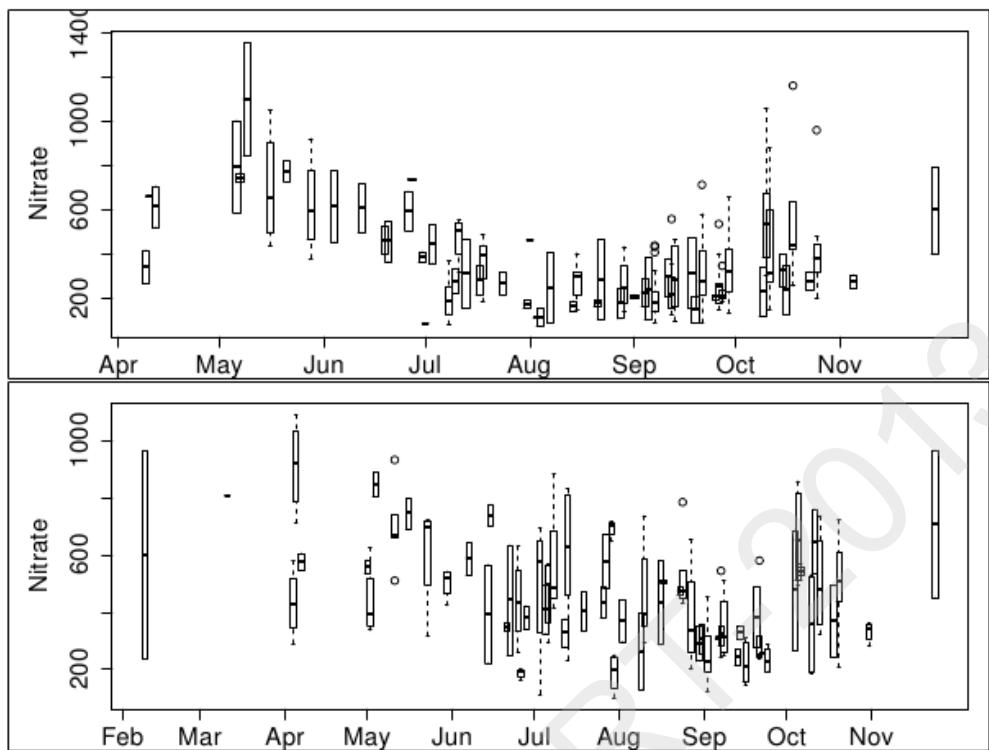


时，表层硝酸盐浓度非常低，大约为 $200\text{--}400 \mu\text{g L}^{-1}$ 之间；随着热分层的逐步瓦解，混合层的深度越来越大，表层的营养盐不断得到补充，硝酸盐的浓度逐渐上升。而深水区不太一样，从四月初开始到九月中旬，硝酸盐的浓度不断下降，下降的幅度较浅水区要小一些，但是下降的时间段比浅水区要长一个月左右，这是因为深水区的热分层现象要维持得长一些，水体垂直对流比较弱，加上水深较深，底部释放的营养盐需要更多的时间扩散至表层，因此直到九月中旬，表层硝酸盐浓度才开始逐渐恢复。



注: x 轴为 Julian 日期; 上: 浅水区表层水体, 下: 深水区表层水体

图 4.13 密云水库 2006 - 2012 年总硝酸盐季节分布

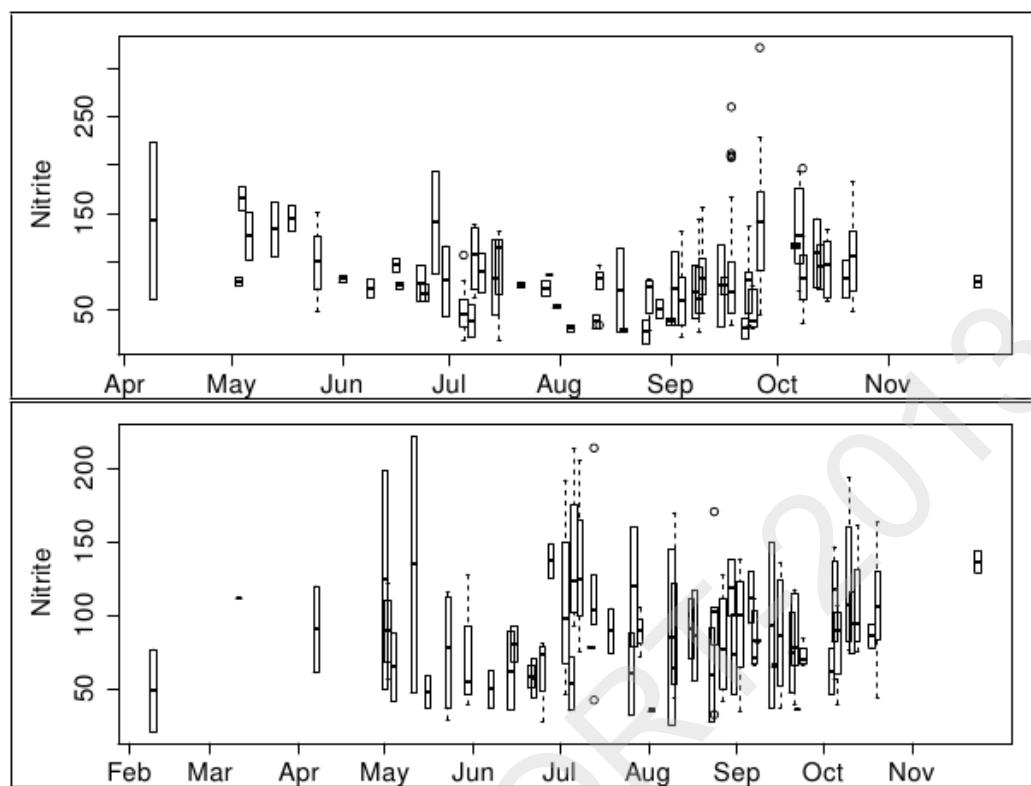


注: x 轴为 Julian 日期; 上: 浅水区表层水体, 下: 深水区表层水体

图 4.14 密云水库 2006–2012 年硝酸盐季节分布

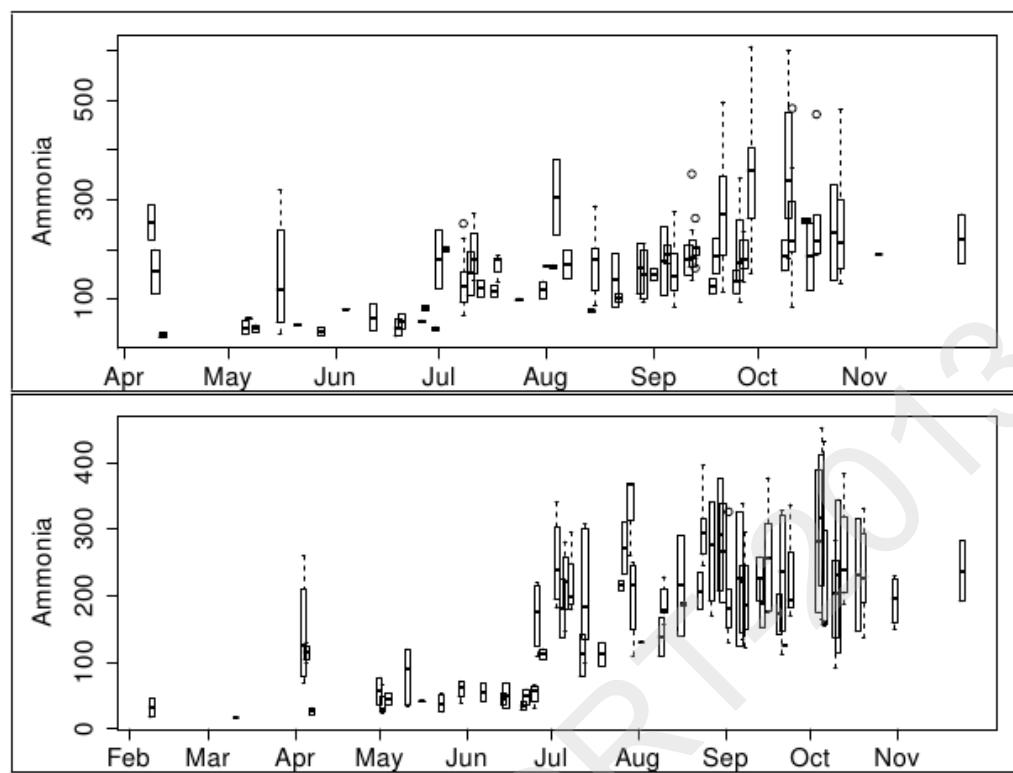
图 4.17 为 2012 年 7 月至 10 月期间密云水库溶解性总氮的空间分布, 可以看出其在水库的分布并不均匀, 但呈现一定的规律。7 月份(图 4.17 左上), 北部浅水区的 TDN 浓度明显比西部和南部深水区要低, 浅水区表层水体中 TDN 浓度大约为 $500 \mu\text{g L}^{-1}$ 左右, 西部深水区表层浓度最高, 基本上在 $1,000 \mu\text{g L}^{-1}$ 以上, 而南部深水区的浓度大约为 $800 \mu\text{g L}^{-1}$ 左右。到 9 月初(图 4.17 右上), 浅水区表层 TDN 开始上升, 而西部深水区的浓度明显降低, 南部深水区浓度逐渐无明显变化; 从 9 月底开始, 由于水体垂直混合的结果, 浅水区表层浓度大幅上升, 而深水区的浓度变化比浅水区滞后一个月左右。硝酸盐氮的分布与溶解性总氮相似, 结果不再进行讨论。

亚硝酸盐的浓度相对较低, 对藻类等水生生物影响不大, 总体变化特征与硝酸盐类似, 浅水区在春季和夏季期间浓度明显下降, 在秋季冬季时逐渐上升(图 4.15 上), 而深水区的变化并不明显, 全年浓度均在 $50\text{--}150 \mu\text{g L}^{-1}$ 之间。铵态氮的季节变化与硝酸盐有所不同, 如图 4.16 所示: 总体浓度浅水区(上)较深水区(下)略高, 在 7 月份之前, 表层水体中铵态氮的浓度均较低, 从 7 月份开始, 迅速上升, 并且深水区上升的速度更快。这可能与逐渐增加的降雨导致入库河流引入较高浓度的铵态氮有关。



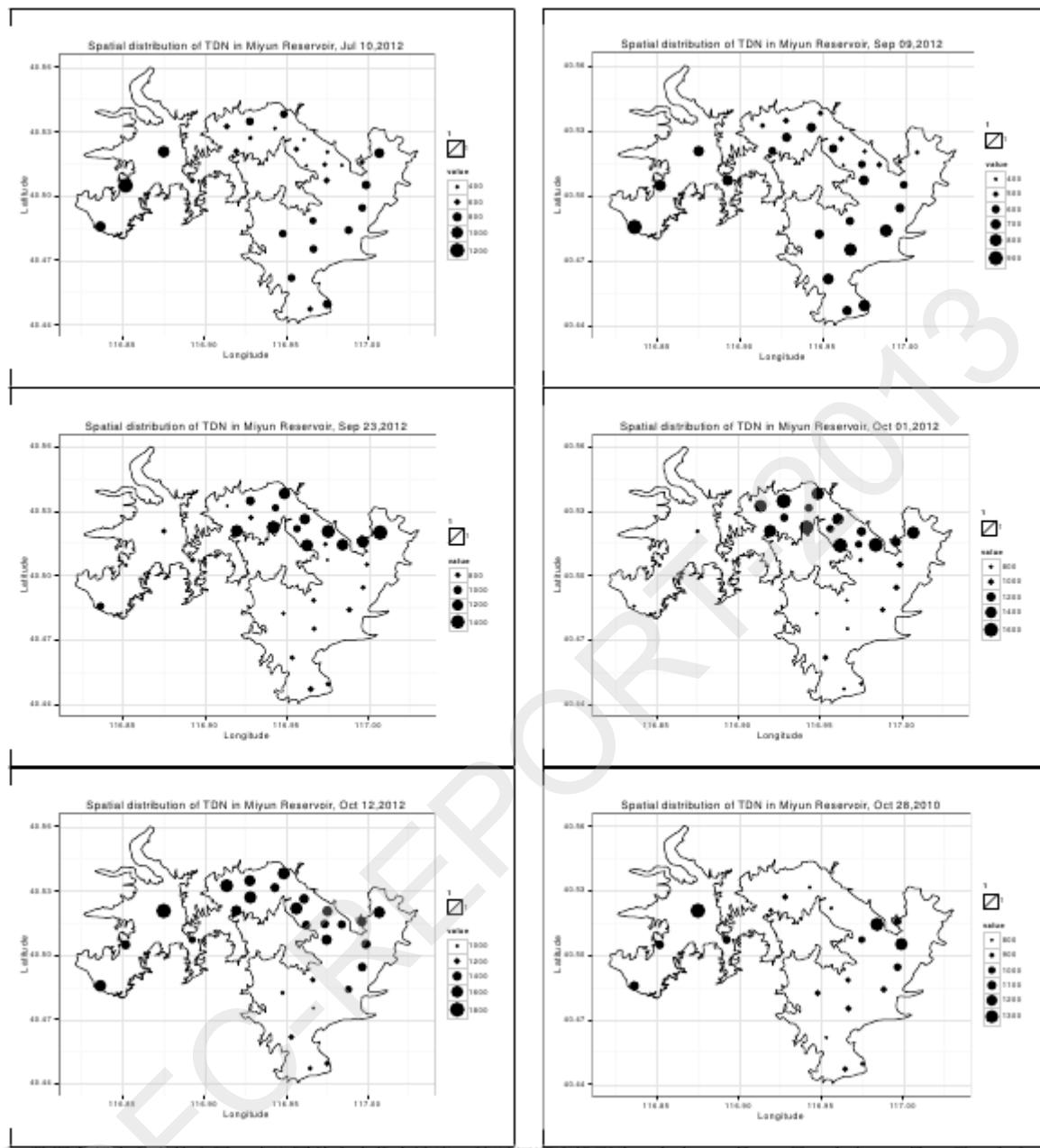
注:上: 浅水区表层水体, 下: 深水区表层水体

图 4.15 密云水库 2006 - 2012 年亚硝酸盐季节分布



注:上: 浅水区表层水体, 下: 深水区表层水体

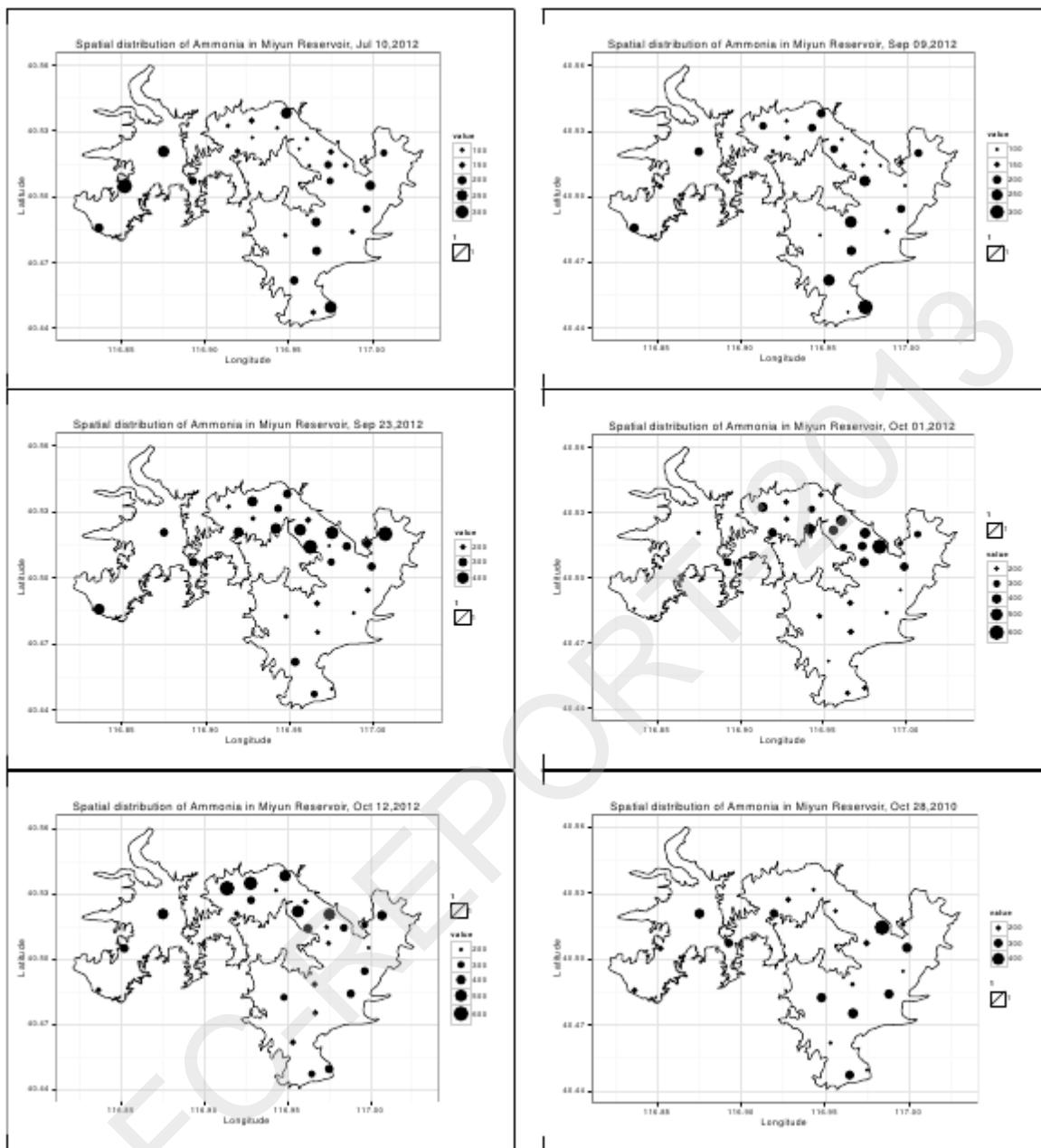
图 4.16 密云水库 2006 - 2012 年铵态氮季节分布



注: 数据全部来自水体表层, 实心圆的大小代表浓度, 按时间顺序排列为: 左上, 7月 10 日; 右上, 9月 9 日; 左中, 9月 23 日; 右中, 10月 1 日; 左下, 10月 12 日, 右下, 10月 28 日。下同

注: 数据全部来自水体表层, 实心圆的大小代表浓度, 按时间顺序排列为: 左上, 7月 10 日; 右上, 9月 9 日; 左中, 9月 23 日; 右中, 10月 1 日; 左下, 10月 12 日, 右下, 10月 28 日。下同

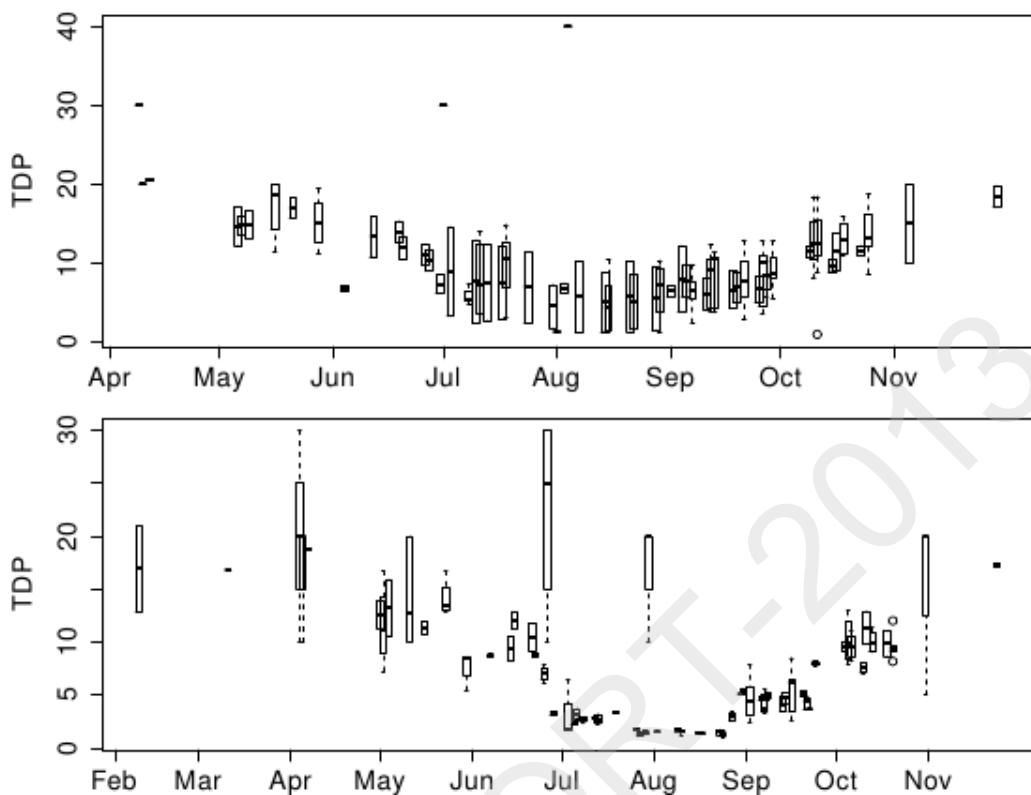
图 4.17 密云水库总氮空间分布



注: 数据全部来自水体表层, 实心圆的大小代表浓度, 按时间顺序排列为: 左上, 7月 10 日; 右上, 9月 9 日; 左中, 9月 23 日; 右中, 10月 1 日; 左下, 10月 12 日, 右下, 10月 28 日

注: 数据全部来自水体表层, 实心圆的大小代表浓度, 按时间顺序排列为: 左上, 7月 10 日; 右上, 9月 9 日; 左中, 9月 23 日; 右中, 10月 1 日; 左下, 10月 12 日, 右下, 10月 28 日

图 4.18 密云水库氨氮空间分布



注:上: 浅水区表层水体, 下: 深水区表层水体

图 4.19 密云水库 2006 - 2012 年总磷季节分布

图 4.18 为 2012 年 7-10 月期间密云水库铵态氮时空分布, 可以看出, 深水区和浅水区的分布规律明显不同, 在 9 月初之前, 深水区浓度略高, 大约在 $200\text{--}300 \mu\text{g L}^{-1}$ 之间, 9 月份之后浅水区表层浓度要明显高于深水区。

磷为密云水库的限制因子, 因此磷的时空分布显得尤为重要。如图 4.19 所示, 溶解性磷酸盐的季节变化呈现十分明显的规律, 在 8 月份之前, 由于表层藻类的大量生长消耗了大量的磷酸盐, 导致浓度从 $20 \mu\text{g L}^{-1}$ 不断下降至不到 $\mu\text{g L}^{-1}$, 而深水区表层磷酸盐基本上消耗完毕。从 8 月中旬开始, 逐渐下降的水温和日照以及表层营养盐的缺乏导致藻类密度下降, 降低了对磷酸盐的消耗, 同时, 水体热分层现象的瓦解在一定程度上补充了表层水体的磷酸盐含量, 此后, 水体中 TDP 浓度逐渐上升。磷酸盐的变化与溶解性总磷的变化趋势基本一致, 不再单独分析。溶解性总磷和磷酸盐的空间如图 4.20 所示, 总体来说, 浅水区的浓度要高于深水区, 其浓度分别介于 $0\text{--}20 \mu\text{g L}^{-1}$ 与 $0\text{--}30 \mu\text{g L}^{-1}$ 之间, 符合 II 类地表水标准。

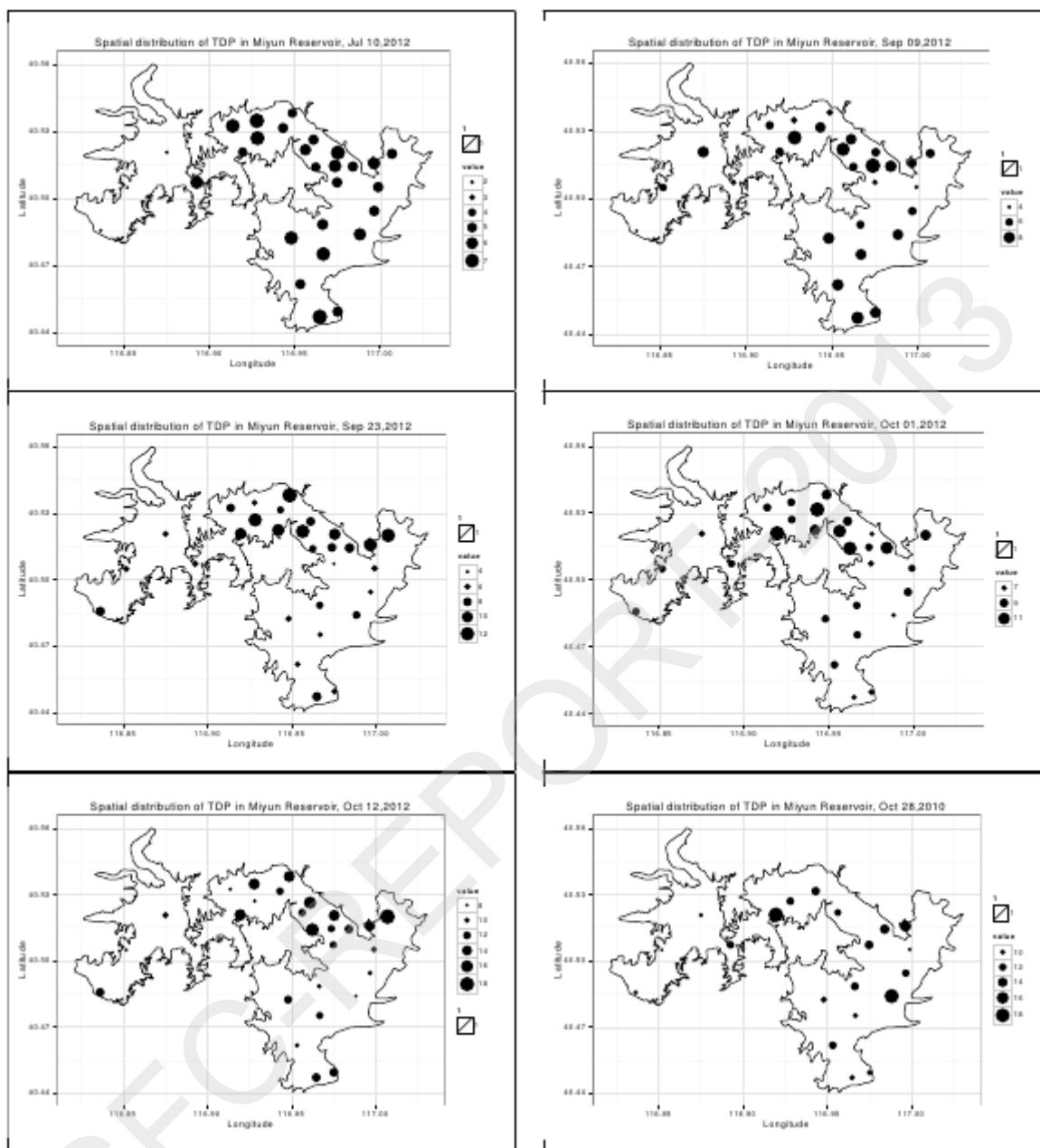
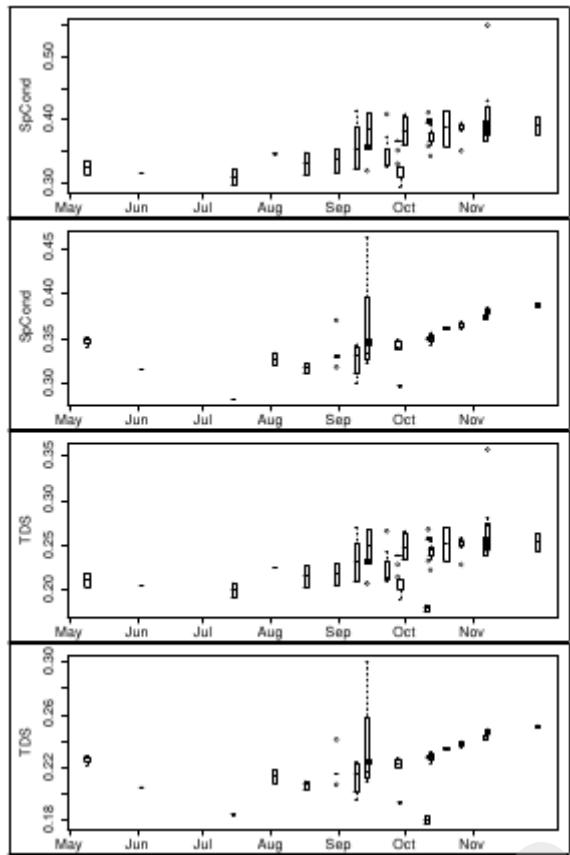


图 4.20 密云水库总磷空间分布

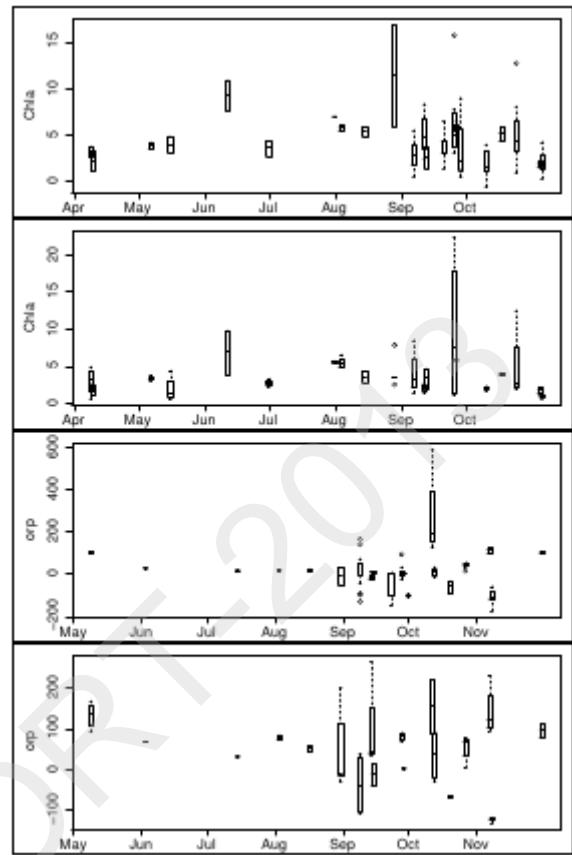
3.1.8.3 其他水质参数

密云水库中电导率、总溶解性固体颗粒物相对比较稳定, 分别为 $300\text{--}400 \mu\text{S cm}^{-1}$ 、 $180\text{--}280 \text{ g L}^{-1}$ 之间, 并且浅水区比深水区略高。叶绿素 α 在夏季和秋季要高 2–3 倍, 而氧化还原电位(*orp*)等并没有呈现明显的规律, 全年在 -100–200 mv 之间, 如图 4.21 和图 4.22 所示。



注:上: 浅水区表层水体, 下: 深水区
表层水体

图 4.21 密云水库电导率(SpCond)和总溶解性固体(TDS)季节变化



注:上: 浅水区表层水体, 下: 深水区
表层水体

图 4.22 密云水库叶绿素 a 和氧化还原电位(orp)季节变化



3.2 密云水库藻类种群结构特征

藻类种群动态为本研究的重点项目，本研究从 2008 年开始对密云水库全库区的藻类进行了为期 4 年的调查，另外在洋河水库也进行了为期一年(2009)的藻类调查，获取大量的藻类原始资料，为今后进一步的研究提供了宝贵的数据。

3.2.1 藻类种群调查

2009 年调查期间，在密云水库中共采集到了藻类 6 门 55 属。其中硅藻(Bacillariophyta)共 12 属，绿藻(Chlorophyta)16 属，蓝藻(Cyanophyta)13 属，以及裸藻(Euglenophyta)、甲藻(Pyrrhophyta)和金藻(Chrysophyta)共 4 属，如表 4.2 所示。可以看出，密云水库的藻类主要由硅藻，蓝藻和绿藻组成。其中硅藻中，小环藻(*Cyclotella*)，脆杆藻(*Fragilaria*)，直链藻(*Melosira*)以及针杆藻(*Synedra*)的丰度比较大。而某些藻种如桥湾藻(*Cymbella*)、等片藻(*Diatoma*)和短缝藻(*Eunotia*)等仅出现一次。绿藻中出现频次较高的有纤维藻(*Ankistrodesmus*)、小球藻(*Chlorella*)、盘星藻(*Pediastrum*)、栅藻(*Scenedesmus*)以及星鼓藻 (*Staurastrum*)等。而卵囊藻(*Oocystis*)以及小箍藻(*Trochiscia*)等仅出现一次。蓝藻中的优势藻为微囊藻(*Microcystis*)，在调查期间丰度最高，平裂藻(*Merismopedia*)尽管细胞数目也比较大，但是由于细胞体积小，总的生物量并不大。另外色球藻(*Chroococcus*)出现频率也较高。值得注意的是，颤藻(*Oscillatoria*)和席藻(*Phormidium*)从 8 月份开始出现，鱼腥藻(*Anabaena*)也又出现，但浓度不高。金藻中出现的藻为锥囊藻(*Dinobryon*)，出现频次比较高。裸藻中出现的为裸藻属(*Euglena*)，频次和浓度均不高；另外，甲藻中角甲藻(*Ceratium*)和多甲藻(*Peridinium*)出现频次较高，但浓度不高。



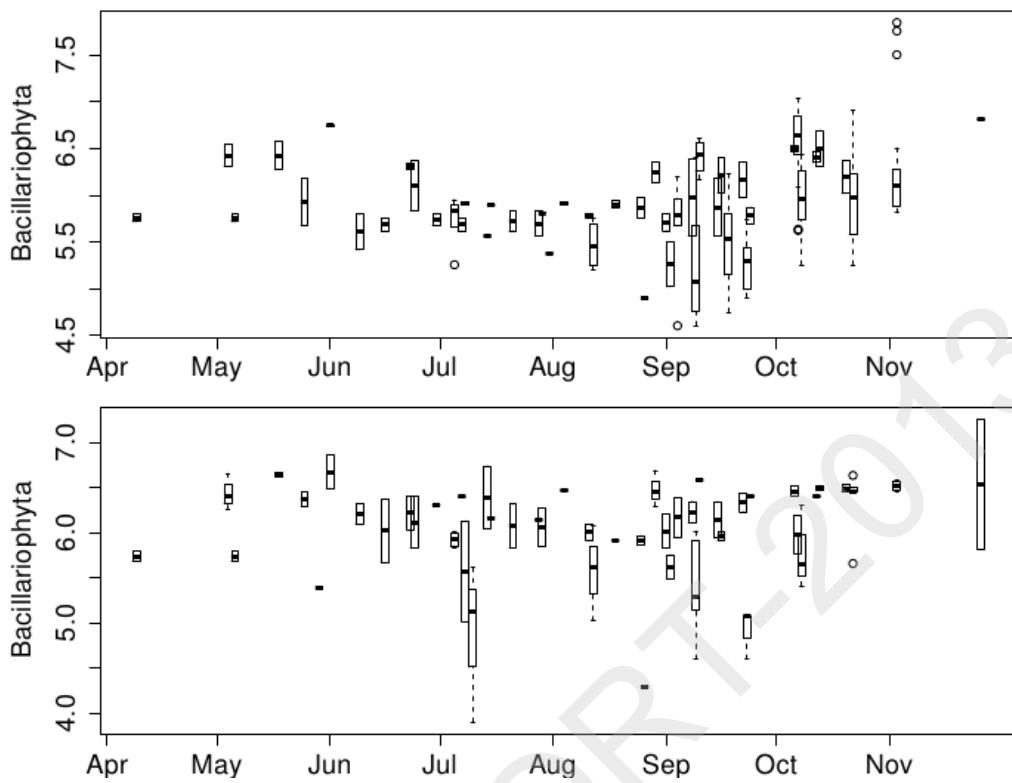
表 4.2 密云水库 2009 年藻类种群动态变化

Phytoplankton	Jun 02	Jul 14	Aug 04	Sep 08	Sep 22	Sep 28	Oct 26
Bacillariophyta (12)							
<i>Cyclotella</i> sp.				+++	++	+	++++
<i>Cymbella</i> sp.			+				
<i>Diatoma</i> sp.							+
<i>Diploneis</i> sp.		++	++	+	+	+	
<i>Eunotia</i> sp.							+++
<i>Fragilaria</i> sp.	+++	++	++	++	+++	+++	+++
<i>Frustulia</i> sp.							+
<i>Melosira</i> sp.	+++	+++	+++	++	+++	+++	++
<i>Navicula</i> sp.					++	+	
<i>Pinnularia</i> sp.		+	+				
<i>Rhizosolenia</i> sp.	++	++					
<i>Synechidium</i> sp.	++	++	++++	++++	++++	++++	++++
Chlorophyta (16)							
<i>Ankistrodesmus</i> sp.		++	+++	++	+++	++	++
<i>Chlorella</i> sp.	+++	++	+++	+++	+++	++++	+++
<i>Closterium</i> sp.				+			+
<i>Crucigenia</i> sp.	++						
<i>Echinosphearella</i> sp.							++
<i>Golenkinia</i> sp.				++	+	+	
<i>Micractinium</i> sp.		++	+		+		
<i>Oocystis</i> sp.	++						
<i>Pediastrum</i> sp.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Scenedesmus</i> sp.	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Selenastrum</i> sp.	++		++	++	+++	+++	+++
<i>Staurastrum</i> sp.	++	++	++	++	++	++	++
<i>Tetraedron</i> sp.	++	++	++	++	++	++	++
<i>Treubertia</i> sp.				++	+	++	+
<i>Trochiscia</i> sp.				+			
<i>Volvox</i> sp.	+				+++		
Chrysophyta (1)							
<i>Dinobryon</i> sp.	+++	+++	++	+		++	++
Cyanophyta (13)							
<i>Anabaena</i> sp.	+++	+++	+++	+++			
<i>Aphanizomenon</i> sp.	+++	+++	+++	+++			+++
<i>Aphanocapsa</i> sp.	+++						
<i>Chroococcidiopsis</i> sp.	++	++	++	++	++		++
<i>Cylindrospermum</i> sp.			+++	++	++	++	++
<i>Juglunema</i> sp.				+++			+++
<i>Limnothrix</i> sp.				++++	+++	+++	+++
<i>Merismopedia</i> sp.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Microcystis</i> sp.	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++
<i>Oscillatoria</i> sp.			+	+++	+++	+++	++
<i>Phormidium</i> sp.			+	++	++		+
<i>Pseudanabaena</i> sp.						+++	
<i>Synechocystis</i> sp.	+++	++	+++	++	++	++	
Euglenophyta (1)							
<i>Euglena</i> sp.				+			+
Pyrrhophyta (2)							
<i>Ceratium</i> sp.	++	++	++			+	++
<i>Peridinium</i> sp.	++	++	++	++	++	++	++

⁺ : [1, 10], ++ : [10, 100], +++ : [100, 1000], ++++ : [1000, 10000]; 单位: cell mL⁻¹

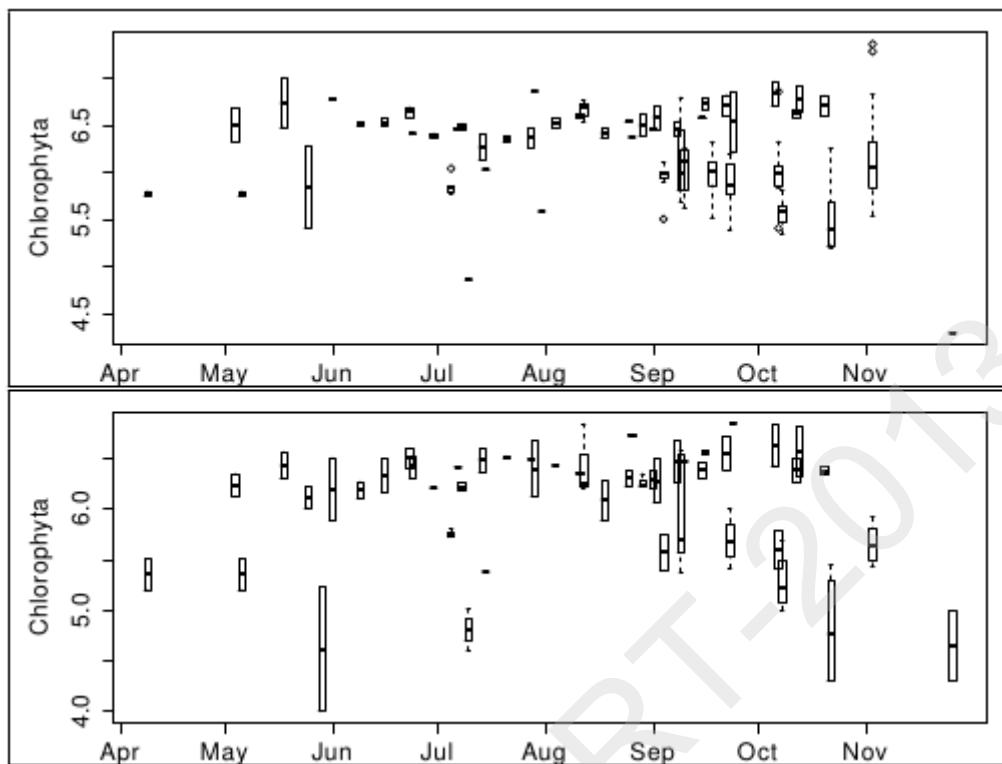
3.2.2 藻类时空变化

由于水体环境的时空变化, 不同的藻类适应不同的环境, 因此导致藻类种群结构同样呈现季节性变化。密云水库中三大藻类(硅藻、绿藻和蓝藻)的动态变化非常明显, 如图 4.23、图 4.24 和图 4.25 所示。



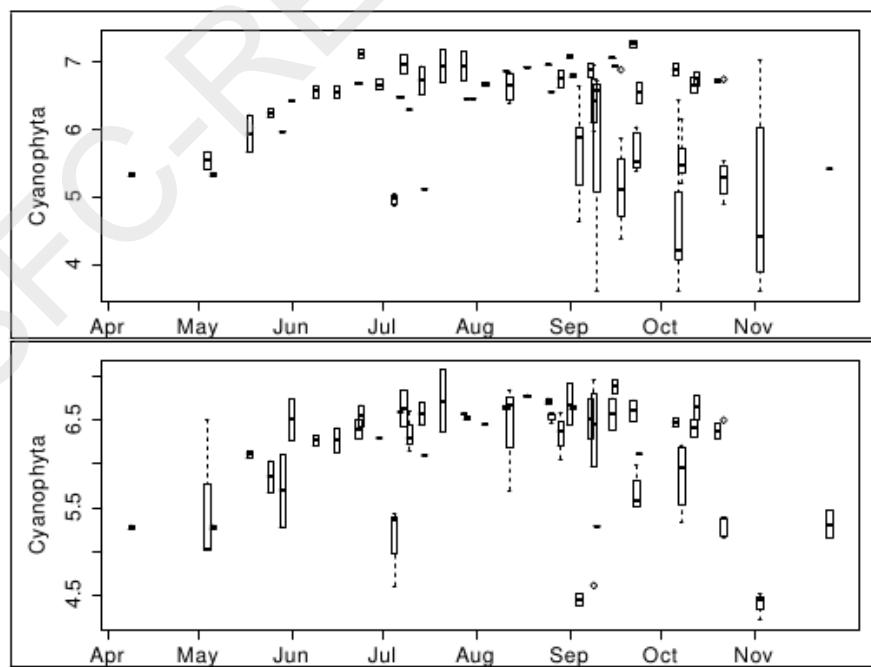
注:横坐标为 Julian 日期, 纵坐标为对数化后的藻类密度, 上: 为浅水区表层水体藻类数据,
下: 为深水区表层水体数据

图 4.23 密云水库 2009 - 2012 年期间硅藻季节动态变化



注:横坐标为 Julian 日期, 纵坐标为对数化后的藻类密度, 上: 为浅水区表层水体藻类数据,
下: 为深水区表层水体数据

图 4.24 密云水库 2009 - 2012 年期间绿藻季节动态变化



注:横坐标为 Julian 日期, 纵坐标为对数化后的藻类密度, 上: 为浅水区表层水体藻类数据,
下: 为深水区表层水体数据

图 4.25 密云水库 2009 - 2012 年期间蓝藻季节动态变化

硅藻在浅水区季节变化相当明显，在春季、初夏和冬季，硅藻的数量较大，在 6 月份蓝藻占优势之前，大部分时间为硅藻占优势；在夏末和秋季时期，硅藻的细胞密度明显下降，下降幅度约在一个数量级；9 月份开始，硅藻数量逐渐回升，到 11 月份成为优势藻。深水区呈现相同规律，但变化幅度远不及浅水区的变化程度(图 4.23)。在热分层时期，由于水体垂直方向上相对比较稳定，表层营养盐浓度比较低，而底层由于表层高密度的蓝藻细胞的影响，光照强度比较弱。硅藻由于没有能够调节自身垂直位置的气囊，处在表层的硅藻很难下沉至底部吸收营养盐，而下沉至底部的硅藻可能很难上浮到透光区进行光合作用，因此，在热分层时期，对硅藻来说是劣势。相反，在低温季节，水体垂直方向混合比较足，硅藻可以凭借上下垂直对流吸收光和营养盐，因此具有一定优势。

图 4.24 为绿藻季节动态分布变化，与硅藻分布规律有所不同，绿藻占优势的时期非常短，一般是处于环境变化比较明显的时期，如春夏交替，秋冬交替时期，不适合蓝藻和硅藻的生长。因此可以看出，硅藻在五月中旬和八月中旬以及十月初浓度相对较高，但其优势地位往往很快就被蓝藻或者硅藻取代。深水区的分布稍微不同，主要为在低温时期，绿藻密度非常低，从夏季开始到秋季结束，绿藻密度并没有呈现比较明显的变化，总的来说，深水区的绿藻浓度要低于浅水区。蓝藻是密云水库另一类非常重要的藻类，并由于部分蓝藻具有一定毒性或者能产生嗅味代谢产物严重影响到水库水质和饮用水的安全，因此收到广泛关注，也是本研究的主要内容。如图 4.25 所示，从五月份水温开始逐渐上升，太阳光照强度也不断增强，深水区和浅水区的蓝藻生物量均开始迅速上升，到 7 月份，浅水区蓝藻细胞密度达到 $1 \times 10^4 \text{ cells mL}^{-1}$ ，并消耗了大量的营养盐，蓝藻生长速度变得缓慢，一直持续到 9 月初，由于水温下降，光照强度也降低，蓝藻的密度开始逐渐下降；一方面，水体中营养盐浓度难以维持蓝藻高密度的生物量；另一方面，蓝藻在夏季期间，由于具有气囊可以通过调节自身高度吸收营养盐和光照，到 9 月份后，混合层的深度也不断增加，这个优势不再明显；因此，多方面的原因导致蓝藻迅速下降。10–11 月份期间，蓝藻密度约为 $1 \times 10^2 \text{ cells mL}^{-1}$ 左右。

图 4.26 为 2009 年 9 月份三次藻类调查的综合结果，可以看出藻类主要集中分布在浅水区，细胞密度约为 $2.0 \times 10^4 \text{ cells mL}^{-1}$ (数据为所有采样点数据平均值)，另外南部深水区的藻密度也相对较高，而西部深水区浓度不到 $1.0 \times 10^4 \text{ cells mL}^{-1}$ 左右。浅水区藻类在垂直方向上分布比较均匀，但是表层和中层略显优势；而深水区藻类密度在表层要高于中层和底层，这应该是因为中层和底层缺乏太阳光照所致。

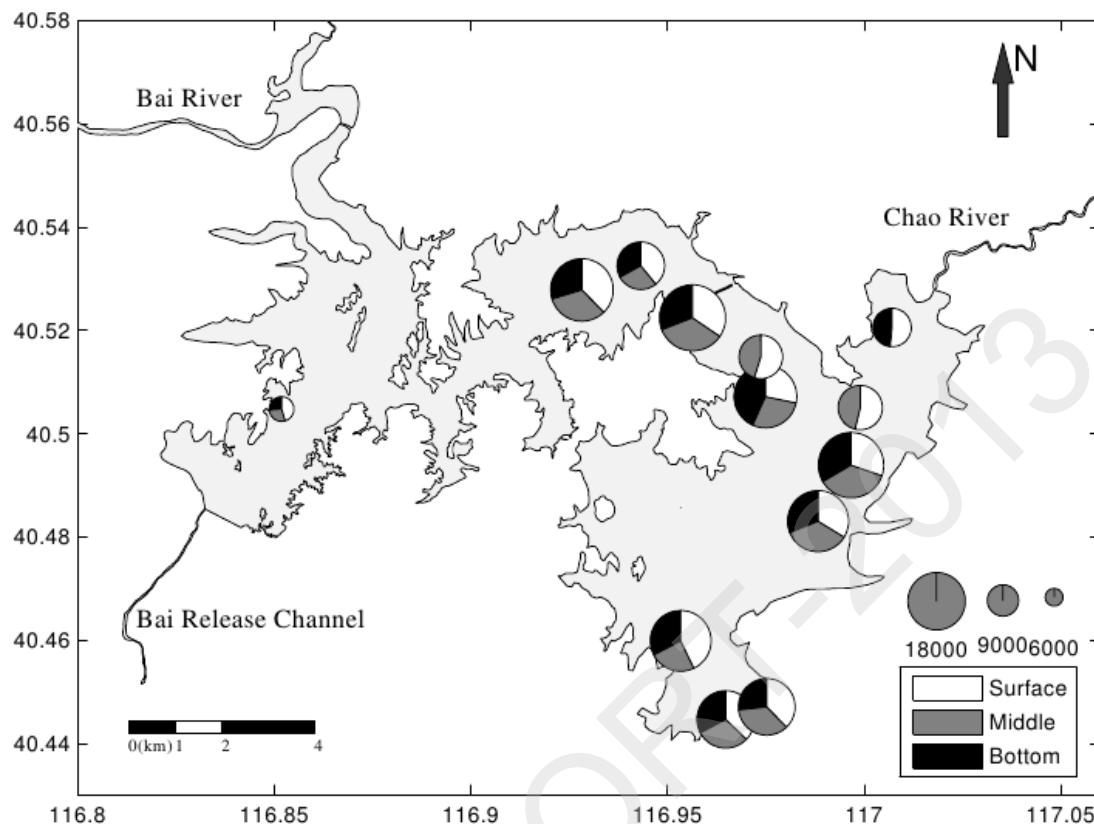


图 4.26 密云水库藻类空间分布

3.3 密云水库底栖藻生长及其嗅味产生特征

3.3.1 前言

在全世界范围内，人工建造水库已经成为一种保障饮用水安全的主要途径之一^[103]。然而，将饮用水源用水库型水源替代河流型水源后出现了一系列的问题，其中最主要的一个是藻类等浮游生物的非正常生长导致应用水源水质恶化^[104-106]。在水库水质管理中，蓝藻爆发及其有害代谢产物比如嗅味物质和藻毒素带来了严重的水质问题，也受到了许多研究者的关注^[17, 107, 108]。然而，直至今日，大多数的研究主要集中关注了富营养化水体中有害藻类爆发(harmful algal bloom, HAB)^[109-111]。饮用水源往往会选择水质相对较好的水库，一般为贫营养和中营养水体，然而对于这部分水体中局部有害藻类爆发却往往被忽略了。

密云水库是一个大型的人工山谷型水库，目前平均水深约为 20 m 左右，是北京市唯一的地表水源，因此受到了非常严格的保护。然而，近几年，在以密云水库为源水的水厂中，检测出了两种非常有名的藻类代谢产物，MIB 和微囊藻毒素 microcystin-LR，并且浓度分别达到了 150 ng L^{-1} ^[112] 和 41 ng L^{-1} ^[113]。如前面所述，MIB 是一种众所周知的致嗅物质，有大量的研究报道证明它主要由丝状和环状蓝藻产生，包含颤藻(*Oscillatoria* sp.)^[114-116]，席藻(*Phormidium* sp.)^[117, 118]，拟鱼腥藻(*Pseudanabaena* sp.)^[119, 120] 以及聚球藻(*Synechococcus* sp.)^[116] 等产生。另外，产微囊藻毒素的藻类被大量研究认定为由以下藻种产生：微囊藻(*Microcystis* sp.)^[121-123]，鱼腥藻(*Anabaena* sp.)^[124, 125] and

束丝藻(*Planktothrix* sp.)^[126] 等产生。根据以往多年的调查和统计研究，在这些所有可疑的藻种中，颤藻和微囊藻分别为密云水库中产生嗅味问题和藻毒素含量超标问题的最大可疑藻种。颤藻是一种底栖藻类，一般附着在透明度较高的浅水滩上，而水华藻种微囊藻趋向于在富营养化水体的表层生长^[127, 128]。而这两个生长环境似乎跟水质很好营养盐含量不高的深水型密云水库没有太大关系，因此对这两种有害藻在密云水库的分布、演替规律以及与环境因子的关系等具有非常重要的社会意义，能够给密云水库水质管理提供一些科学的管理依据。

在 2009 年 6 - 10 月期间，本研究连续调查了密云水库各个区域的水质和藻类种群结构，旨在揭示密云水库的藻类种群结构和丰度时空动态变化以及与水库的理化环境因素包含水温、溶解氧、pH、水体透明度以及营养盐浓度之间的内在关系，并着重关注了环境因子与这两种有害藻中之间的相互关系，以及 MIB 与颤藻和环境之间的关系，本研究可以协助水库水质管理者制定更加合理有效的管理方案。

3.3.2 材料和方法

2009 年 6 月 2 日至 10 月 26 日之间，对密云水库进行了水质和藻类种群调查，除 9 月份为颤藻高风险期采样调查 3 次外，其余时间采样频率均为 1 月 1 次。采样点设置及采样方法与 § 4.1.4 “采样”一致。

3.3.3 微囊藻与颤藻时空分布

微囊藻和颤藻能够分别产生微囊藻毒素和致嗅物质 MIB 而一度成为研究的热点^[118, 129]。如图 4.27 所示，从六月份第一次采样开始起，微囊藻就已经主导了密云水库，其浓度为 $(1,012 \pm 582 \text{ cells mL}^{-1})$ 并马上进入对数增长期，直到八月份达到最高浓度 $(7,610 \pm 5,460 \text{ cells mL}^{-1})$ ，紧接着在 9 月、10 月期间藻细胞密度逐渐下降；而颤藻呈现不同的季节分布桂林，首次在 7 月份的 25% 的样品中检出，其浓度非常低，约为 $1.9 \pm 3.5 \text{ cells mL}^{-1}$ ；随着水体表层微囊藻细胞密度在 9 月份开始不断下降，颤藻的浓度持续增加，并在 9 月 22 日出现最高记录浓度 $(662 \pm 370 \text{ cells mL}^{-1})$ ；此后，直到十月底最后一次采样，颤藻生物量不断降低。

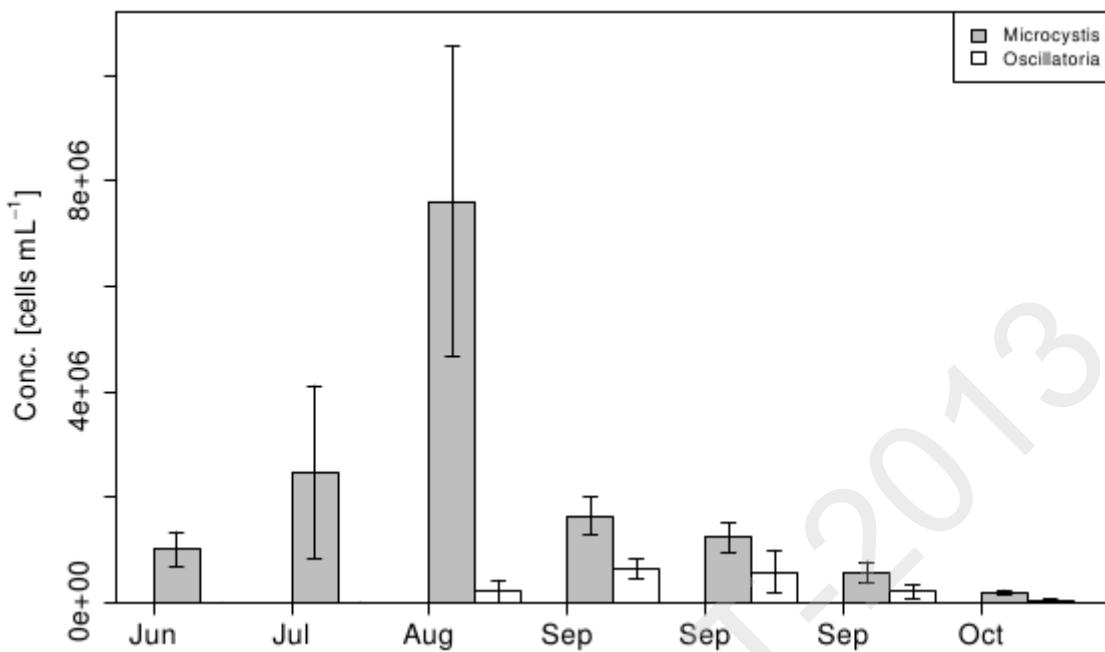
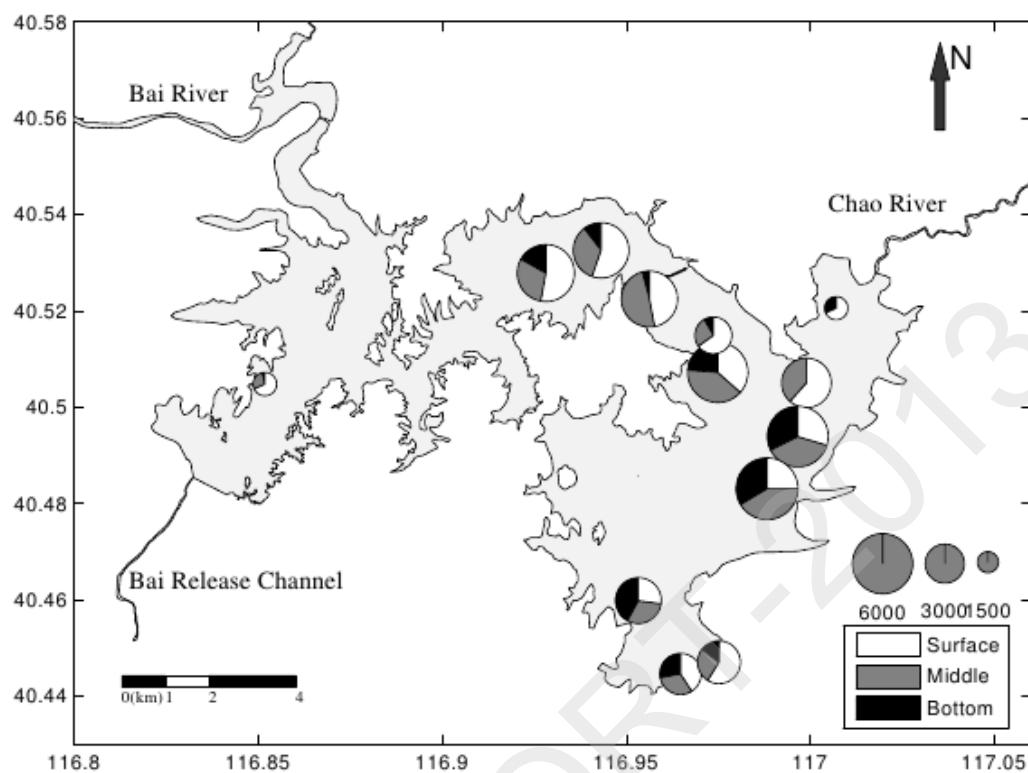


图 4.27 密云水库中 2009 年微囊藻和颤藻季节动态分布

密云水库地形复杂，水面面积广阔，微囊藻和颤藻在水库各个区域的分布并不均匀，结果如图 4.28 和图 4.29 所示(数据为 2009 年 9 月 3 次采样调查)。总体来说，西部深水区和东北部浅水区的微囊藻和颤藻细胞密度均要比北部浅水区和南部深水区要低一些。另外，颤藻在水平方向和垂直方向的空间差异均要大于微囊藻的空间分布：在密云水库四个区域中颤藻主要分布在北部浅水区，而微囊藻不仅在北部浅水区分布较多，在南部深水区表层的分布也占一定比重。另一方面，大部分采样点中表层中的微囊藻细胞密度比重比中层和底层高，而作为一种底栖藻，颤藻在水体中的垂直分布比较均匀，底部并没有显示出明显高于中层和表层水体，这可能是因为在采样中，底层水样并没有采集到附着在底泥上的颤藻生物量，导致结果偏低所致。



注:饼图直径的大小代表当前采样点位置 3 层微囊藻细胞平均密度, 而颜色表示不同深度的值, 白色: 表层; 灰色: 中层; 黑色: 底层

图 4.28 微囊藻在密云水库中的空间分布

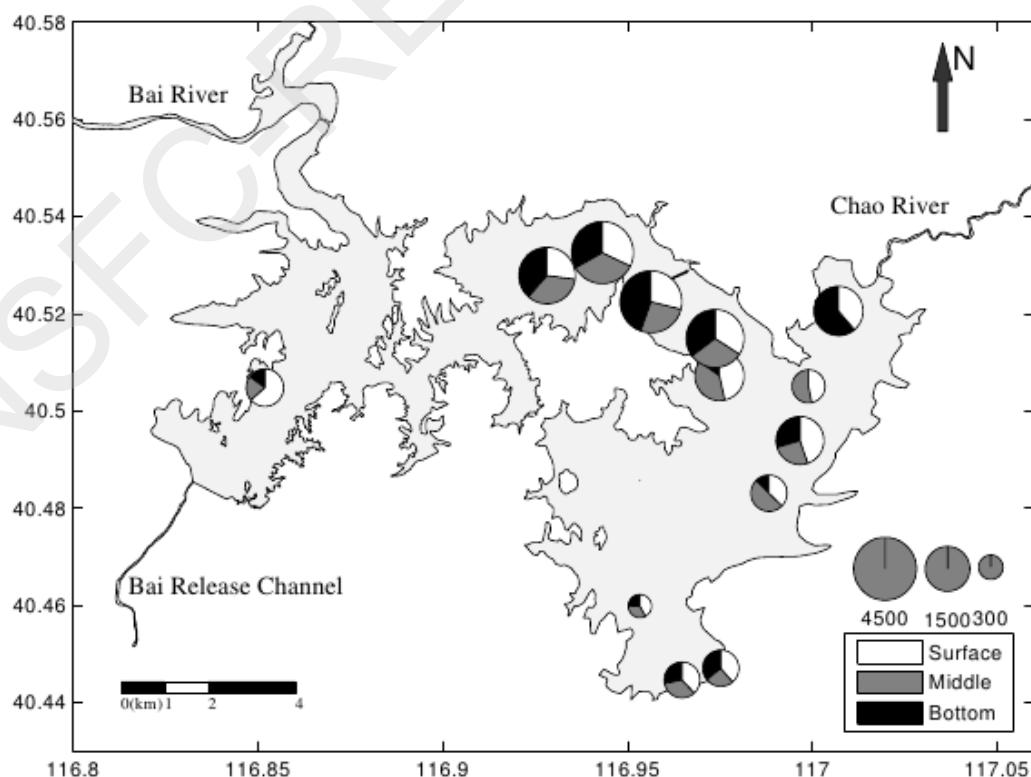


图 4.29 颤藻藻在密云水库中的空间分布



图 4.30 展示了 2009–2010 年两年藻类调查中微囊藻在水体中的垂直分布，可以看出，在大部分的采样日期中，表层中的微囊藻细胞密度相对要高一些，底层相对较低；微囊藻最大浓度 2009 年出现在 8 月 6 日表层，最高浓度达到了 $1.8 \times 10^4 \text{ cells mL}^{-1}$ ，2010 年则出现在 8 月 4 日表层，浓度相对要比 2009 年低，最高浓度将近 $1.0 \times 10^4 \text{ cells mL}^{-1}$ ；可以看出微囊藻在时间尺度上的分布比较稳定，基本上都保持在 8 月初局部表层有较高微囊藻细胞密度出现。从 9 月末开始，微囊藻浓度显著下降至较低水平。

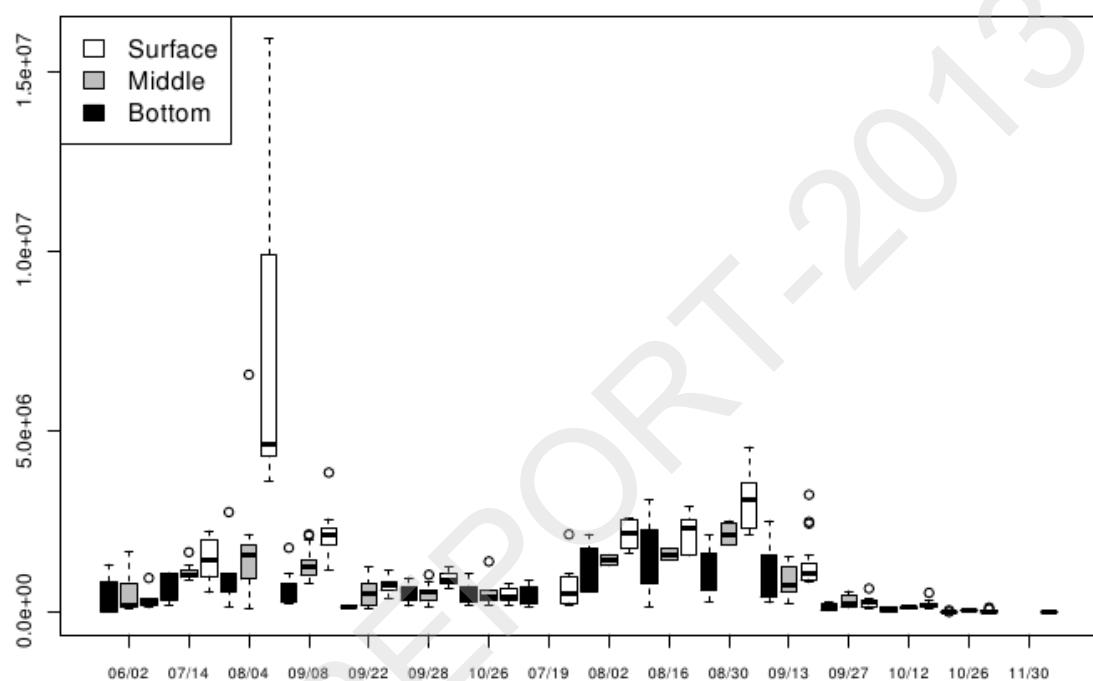


图 4.30 2009–2010 年密云水库微囊藻垂直分布图

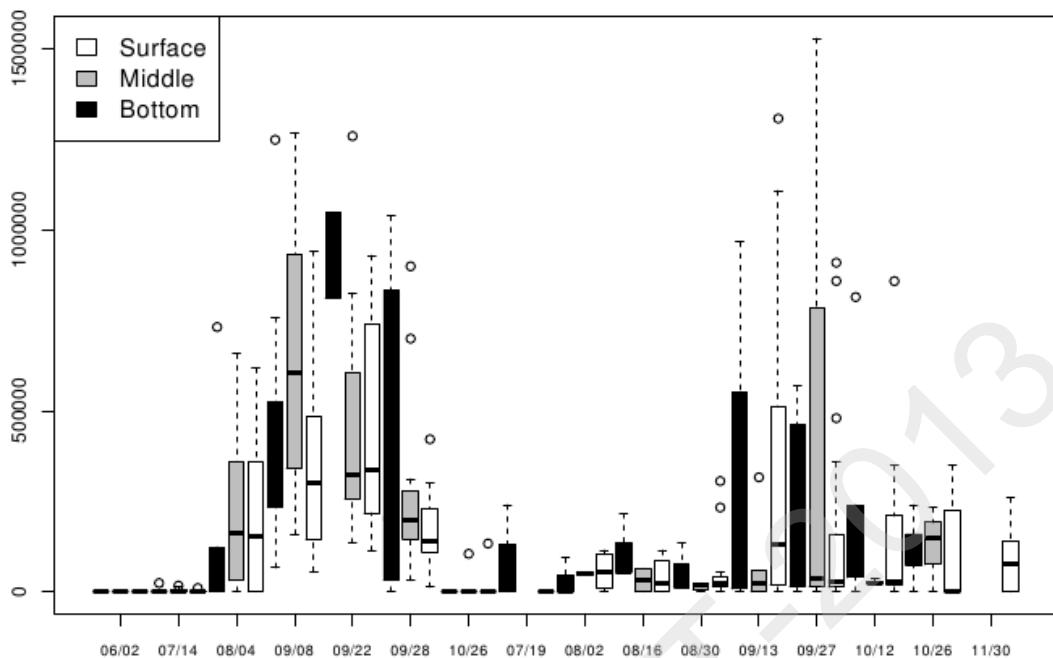


图 4.31 2009–2010 年密云水库颤藻垂直分布图

图 4.31 为颤藻的垂直分布图。总体来说，颤藻的浓度比微囊藻要低一个数量级。在垂直方向上的颤藻分布比较均匀，没有呈现出明显的差别。2009 年 7 月份有部分采样点检出了低浓度的颤藻，八月份最高浓度达到 500 cell mL^{-1} 左右，出现在底层，同时，表层的最高浓度约底层的一般，为 250 cell mL^{-1} ，从 9 月份开始，颤藻浓度开始加速生长，9 月 24 日，在北部浅水区测得颤藻的最高浓度为 $2.7 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ 左右，明显高于其他地区。从十月份开始，颤藻生物量也随着水温和光照的减弱而降低，直到第二年的秋季重复类似的过程。

3.3.4 微囊藻与颤藻竞争演替机制

在 2009 年调查期间，大部分时间蓝藻主导了水库的藻类生态系统。其中一些蓝藻由于可以通过细胞内气囊的大小调节自身在水体中的垂直深度，以便获取光照和营养盐^[130]。因此蓝藻在缺乏垂直对流的稳定水体中，其他不具备气囊和鞭毛等辅助运动的藻类无法在白天获取到透光区的太阳光照以及晚上去深水区吸收营养盐，其竞争力明显不如蓝藻^[131–133]。

在 2009 年 7 月至 10 月期间密云水库水体中均有微囊藻出现(图 4.32)。有研究报道微囊藻容易在高温水体中成为优势藻^[134]，并已经观测到在 $15\text{--}25^\circ\text{C}$ ^[135]。水温实际上是水体接受太阳辐射的一种反应^[136]，另外，水温往往不被认为是驱动浮游生物群落结构的直接原因，水温往往需要和别的环境因子结合才会有影响^[137]。图 4.33 为表层水体中微囊藻生物量与水温之间的关系，微囊藻细胞密度对数化后与水温之间存在很好的线性关系，为 $y = 3 + 0.13x, (r^2 = 0.777, p < 0.001)$ ，类似的结果在一份 11 年的太湖藻类调查研究中出现^[138]。而中层和底层的微囊藻密度与水温之间并没有显著的线性相关性，这是因为中层和底层中的微囊藻主要为从表层下沉的部分，而中层与底层的水温明显和水深显著相关。

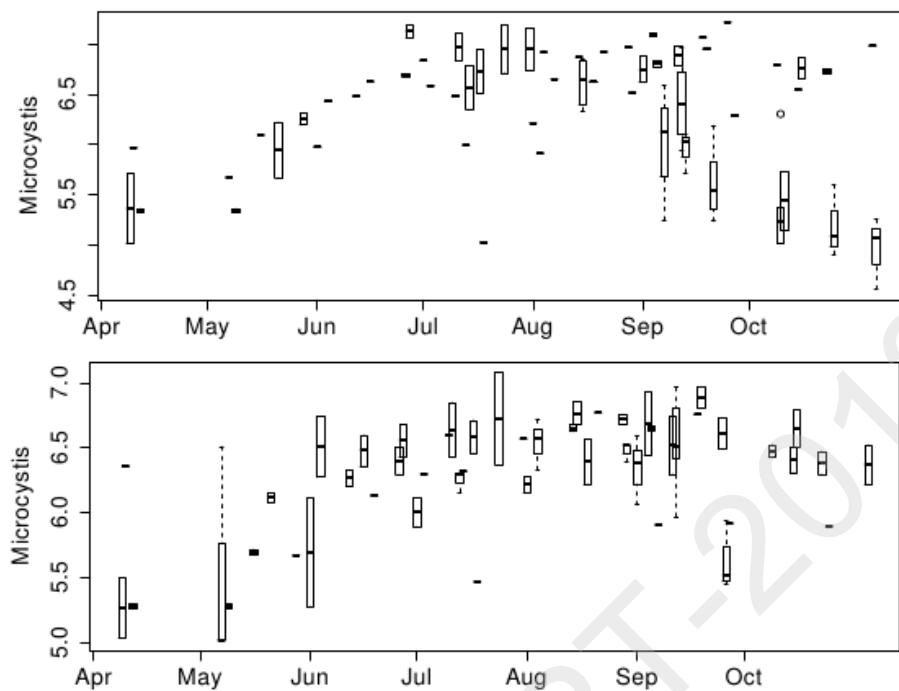


图 4.32 密云水库微囊藻季节变化

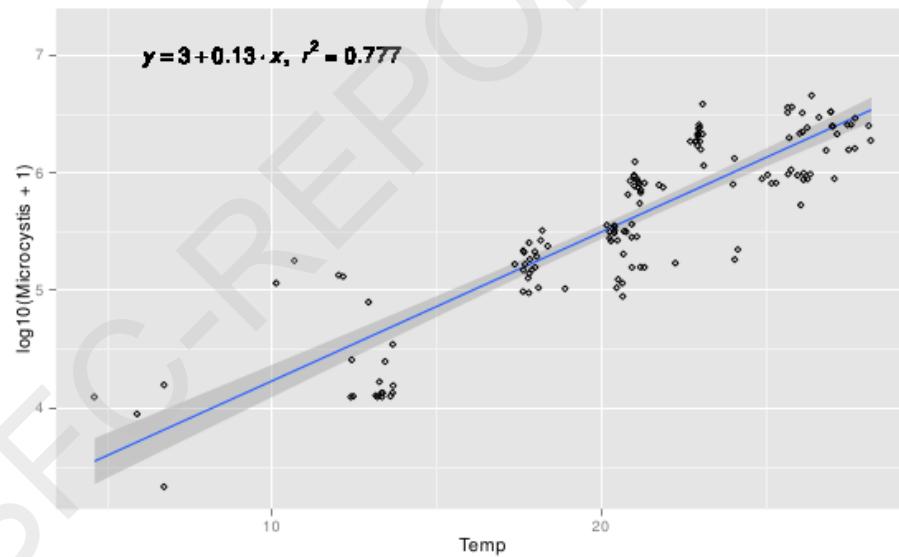


图 4.33 微囊藻与温度之间的关系

营养盐是影响藻类生长的关键因素，图 4.34 为 2009–2012 年密云水库中所有有效样品中氮的形态分布，分别为硝态氮和铵态氮与溶解性总氮之间的关系，图中不同颜色表示来自不同深度的样品，圈的大小代表溶解性总氮的浓度。可以看出，大部分的采样点氨态氮的浓度小于 $400 \mu\text{g L}^{-1}$ ，硝态氮的浓度小于 $600 \mu\text{g L}^{-1}$ 。硝氮与氨氮具有较好的相关性，其中表层水体硝氮与氨氮浓度比值比较大，底层水体中比值相对较低，氨氮比重比表层水体要高，这可能是因为底层水体溶解氧浓度低，氧化还原电位较低，更利于还原态的氨态氮存在。



注:横坐标为氨氮浓度,纵坐标为硝态氮浓度,圈的大小代表溶解性总氮的浓度,颜色表示样品采集深度:红色为底层,蓝色为中层,绿色为表层

图 4.34 2009 - 2012 年期间密云水库氮形态分布图

密云水库中磷的形态分布如图 4.35 所示,不同颜色表示来自不同深度的样品。可以看出磷酸盐与溶解性总磷之间存在显著的线性相关性,表层水体中磷的浓度较低基本上不到 $20 \mu\text{g L}^{-1}$, 并被分为两个区域,浓度较小的区域样品来自深水区表层,另一个浓度为 $10 \mu\text{g L}^{-1}$ 左右,主要来自浅水区的样品。另外,高浓度磷的样品(超过 $20 \mu\text{g L}^{-1}$)全部来自中层和底层水体。

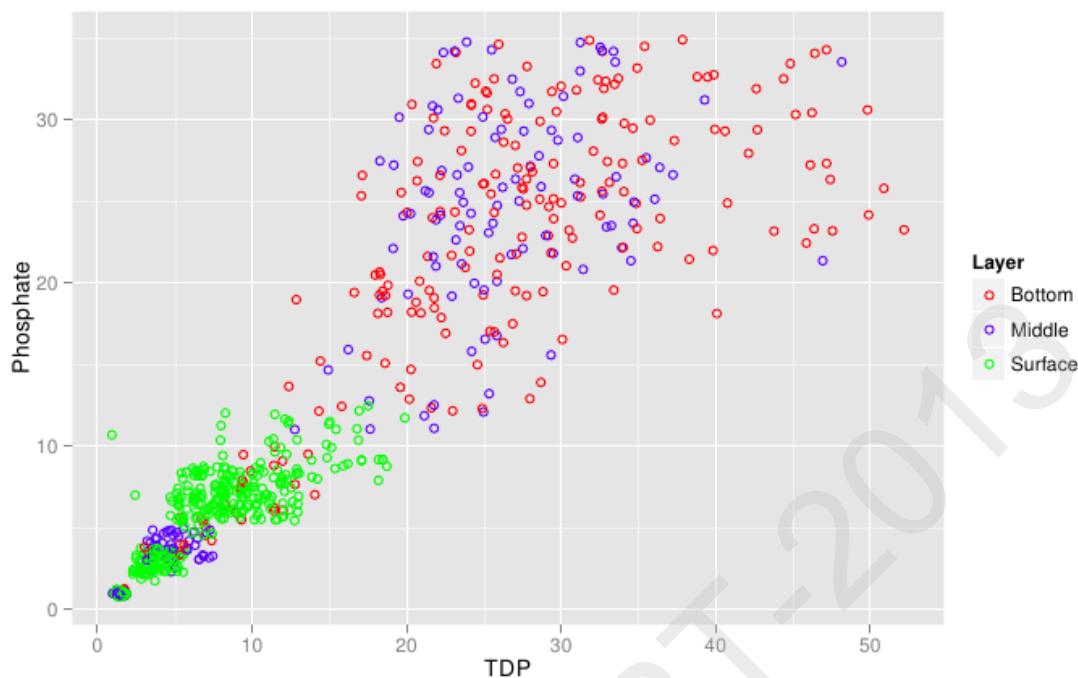


图 4.35 2009 - 2012 年期间密云水库磷形态分布图

因为溶解性总氮与硝酸盐氮和铵态氮之间，以及磷酸盐与溶解性总磷之间均存在显著的相关性，因此讨论营养盐对微囊藻和颤藻等的影响可以侧重在溶解性总氮和总磷上。高浓度的微囊藻主要分布在氮磷营养盐均不高的表层水体中，基本上溶解性总磷的浓度不超过 $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ，溶解性总氮的浓度在 $700 \mu\text{g L}^{-1}$ 以内，但是这种现象不能解释成微囊藻适合生存在低浓度的营养盐环境中，而应该看成是微囊藻爆发吸收了大量的营养物质的结果；有研究认为，微囊藻之所以具有较大的竞争力是因为它可以快速吸收水体中的营养物质并逐渐用于细胞快速增长。在底层水体中，营养盐含量较高，但是微囊藻密度不高，这说明光是微囊藻非常重要的影响因子，另外由于所有样品都是白天采集，大部分的微囊藻浮到表层中了，若有样品在夜晚采集则可能会发现底层微囊藻密度要比白天相对高一些。

许多研究认为微囊藻倾向于在氮磷比较低的水体中爆发^[139, 140]，最新也有研究报导称在富营养水体中，营养盐的浓度比值是影响藻类群落结构的主要影响因子，而在富营养盐水体中，营养盐的绝对浓度具有更大的影响力^[141]。尽管磷是密云水库的限制因子，但是表层水体中的微囊藻生物量并没有与磷含量显著相关($r^2 = 0.228, p > 0.05$)密云水库中大部分区域磷含量较低，表层小于 $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ，最高浓度在浅水区底层出现，约为 $50 \mu\text{g L}^{-1}$ 左右，属于中营养水平。氮磷比(N:P ratio)比较高，为 73 ± 71 (质量浓度比，2009 年数据)。在微囊藻密度不大时，其氮磷比较小，但随着藻细胞密度的增加，氮磷比值的范围越来越大，尤其是表层和中层的样品非常明显，有的样品氮磷比基本不变，但是有的样品氮磷比迅速升高，最高出现了 900 左右。这说明在氮磷不仅仅会影响生物群落结构，而且不同的藻种的增长方式也会对水体的氮磷比值产生较大的影响；另外在磷限制型水体中，藻类爆发迅速消耗完水体中的磷，进而导致水体氮磷比的迅速升高，而在氮限制型水体中，氮磷比可能

会有一定程度的下降。

经过分析发现，除了 MY12 的样品外，所有其他样品中微囊藻的生物量与混合层深度/水深比值($z_{\text{mix}}/z_{\text{max}}$)显著相关，如图 4.36 所示。水体的混合过程促进了水体垂直交换对流，有利于藻细胞的上下游动，同时也促进了底泥中磷的释放并扩散到表层水体。另外，水深在一定程度上也反映了磷从底部扩散到表层水体的时间尺度。MY12 点水深只有 2.5 m，并且处在潮河入库口处，因此水体非常不稳定，可能是成为异常点的原因。

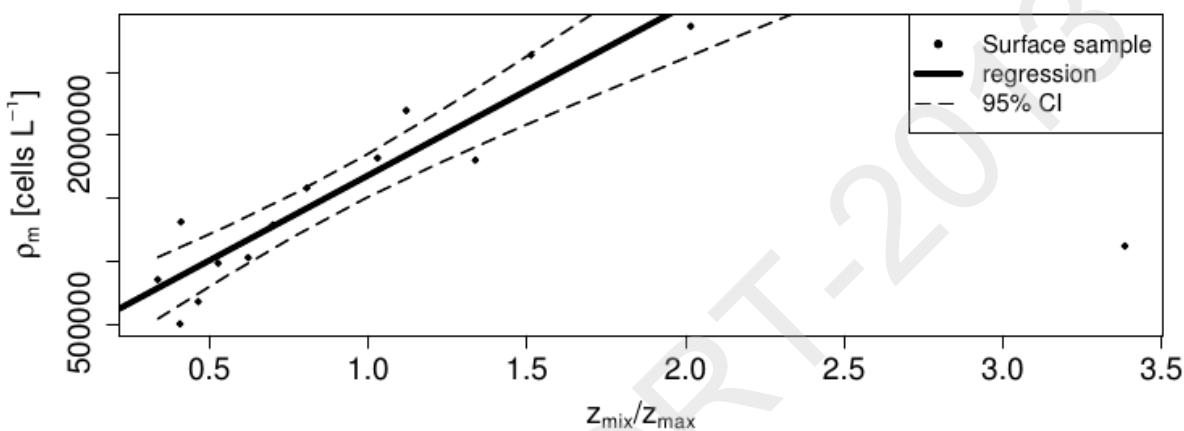


图 4.36 密云水库表层水体中微囊藻生物量与混合层深度/水深比值($z_{\text{mix}}/z_{\text{max}}$)之间的关系

生态系统与水生环境的作用是相互的，环境的变化可能导致生态系统结构的演替，另一方面生物群落的更替带来的影响会反馈给环境。不同的藻类适合不同的 pH 环境。已有研究发现，pH 对于浮游植物的种类组成以及分布有着重要的影响^[142, 143]。一般认为，藻类不适宜于 pH 较高的水体，但是蓝藻能够耐受高 pH 环境，因此在 pH 较高的环境中，往往是蓝藻占优势。另一方面，夏季蓝藻爆发时，由于光合作用消耗大量的二氧化碳导致水体 pH 值升高，又进一步巩固了蓝藻的优势地位。除 pH 值外，水体透明度既可以影响藻类的生长和群落结构，同时表层水体中藻细胞密度的高低也一定程度上决定了水体的透明度。微囊藻在许多水库中夏季高温时期容易爆发并占绝对优势，密云水库中微囊藻与水体 pH 以及透明度的变化具有一定的规律，最高密度的微囊藻基本上分布在 pH 9.6，透明度为 1.1 米左右的表层水体中。表层水体中 pH 相对比中层和底层要高一些。另外，藻密度随着 pH 值的增大而升高，随着透明度的增大而降低。图 4.37 为对数化的微囊藻密度与 pH (上)和透明度(下)之间的相关性分析(数据为 2009 年密云水库表层样品)。分析结果表明水体 pH 与微囊藻生物量之间存在显著的对数线性正相关关系($r^2 = 0.320, p < 0.05$)，这可能是因为夏季微囊藻高强度的光合作用消耗水体中大量二氧化碳所致^[137]。同时，微囊藻生物量也与水体透明度(SD)显著相关($r^2 = 0.574, p < 0.001$)。和 pH 一样，高密度的微囊藻细胞是水体透明度下降的主要原因，同时又巩固它们的优势地位。但是，表层水体中持续增加的藻细胞不断的消耗水中营养盐，直到水中无法维持和保证更多微囊藻生长所需，并且到 9 月份太阳光照强度降低，微囊藻生物量开始逐渐降低，同时水体透明度也随之升高，提供给水体底层的底栖藻更多的有效太阳辐射。颤藻是密云水库水体中获得成功的底栖藻之一，在九月份微囊藻细胞密度降低后，颤藻生物量开始增长。在磷限制



的密云水库中，磷对颤藻的重要性和微囊藻一样；除此以外，水体中有效光照对颤藻的生长也是至关重要的。然而，在水库中不同深度的颤藻生物量显示出与环境因子之间不同的关系特征，如图 4.38 所示。在表层和中层水体中颤藻生物量与溶解性总磷的含量显著相关，其相关关系式分别为： $r^2 = 0.773, p < 0.001, k = 1.82 \times 105$ (图 4.38a) 和 $r^2 = 0.771, p < 0.001, k = 3.20 \times 104$ (图 4.38a)，但在底层水体中，这种相关性并不显著。图 4.39 为采样点位置水深与颤藻生物量之间的关系，可以看出，底层水体样品的颤藻生物量与水深之间有显著的负相关关系，而中层与表层水体中并没有明显规律。另外，还发现了颤藻生物量与透明度之间具有一定的关系，如图 4.40 所示，底层水样中，除了深水区 15 m 水深的样品外，颤藻生物量在透明度较高的地区相对较高。进一步的分析发现，底层水体中颤藻生物量与透明度/水深比值之间具有显著的相关性，其关系式为： $r^2 = 0.683, p < 0.001$ (图 4.38b)。这种不同的特征表明在表层和中层水体中磷是颤藻的主要限制因子，有效光强度主要由水体透明度和水深决定，是底层水体中限制颤藻的主要因素。

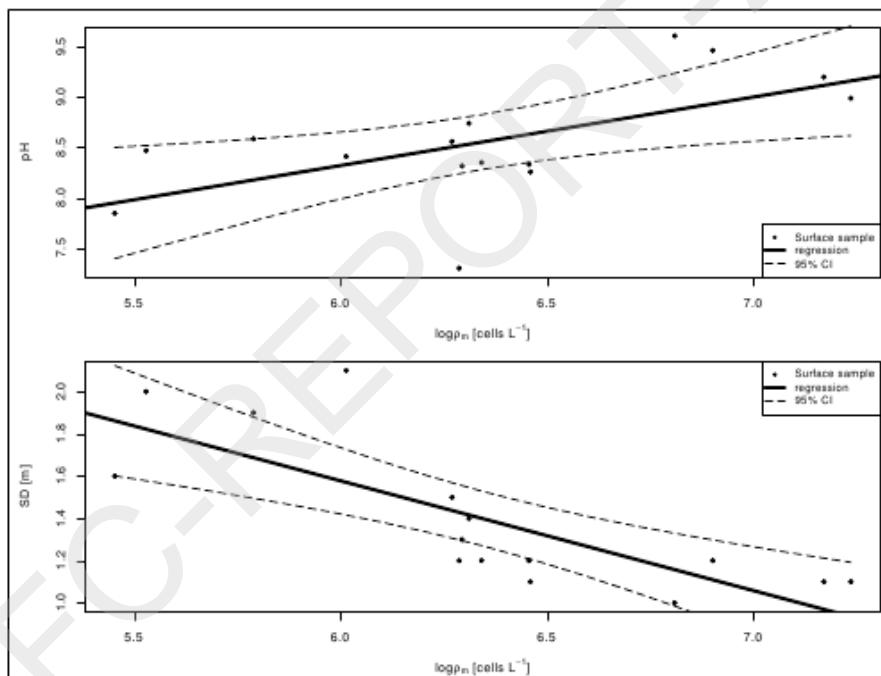
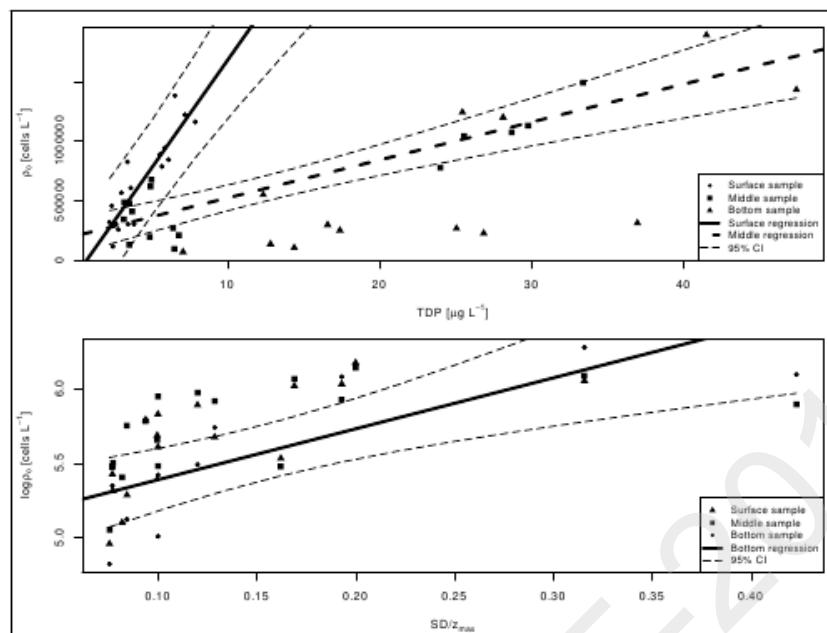


图 4.37 微囊藻与水体透明度和 pH 之间的关系



注:实心圆点: 表层水体样品, 实心方框: 中层水体样品, 实心三角: 底层水体样品。粗实线为对应的线性回归直线 a.(上)表层水体样品, b.(下)底层水体样品, 粗虚线为中层水体样品的线性回归直线, 细虚线为对应线性回归的 95% 置信区间

图 4.38 颤藻 生物 量(ρ_0 或者 对数 转换 后 $\log \rho_0$)与 a.(上)溶 解性 总磷 (TDP)以 及 b.(下)水体透明度之间的相关性分析

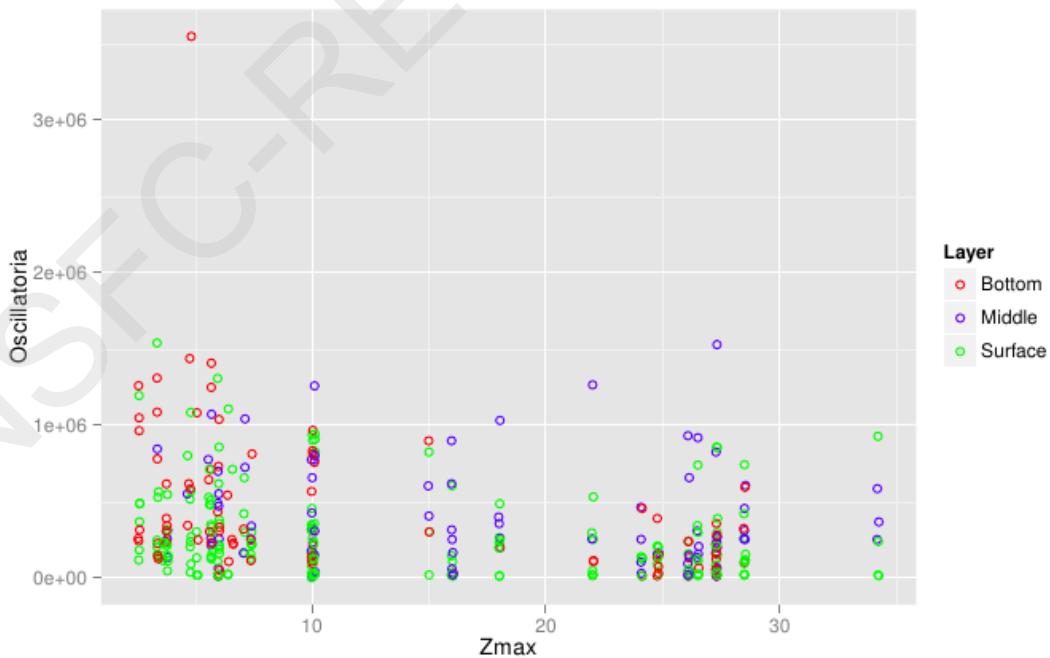


图 4.39 密云水库中颤藻生物量与水深(z_{max})之间的关系

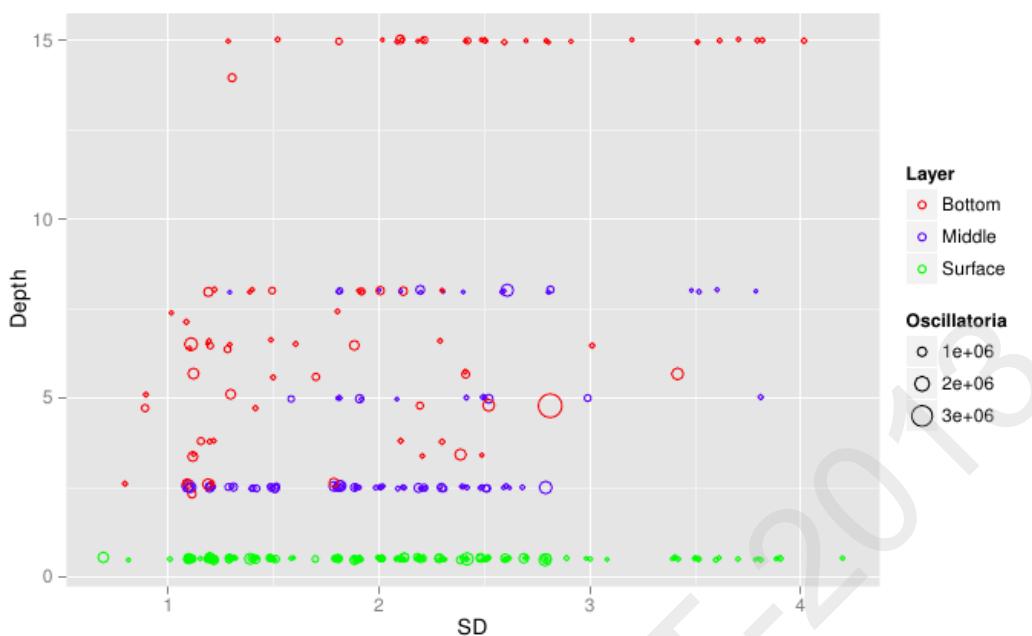
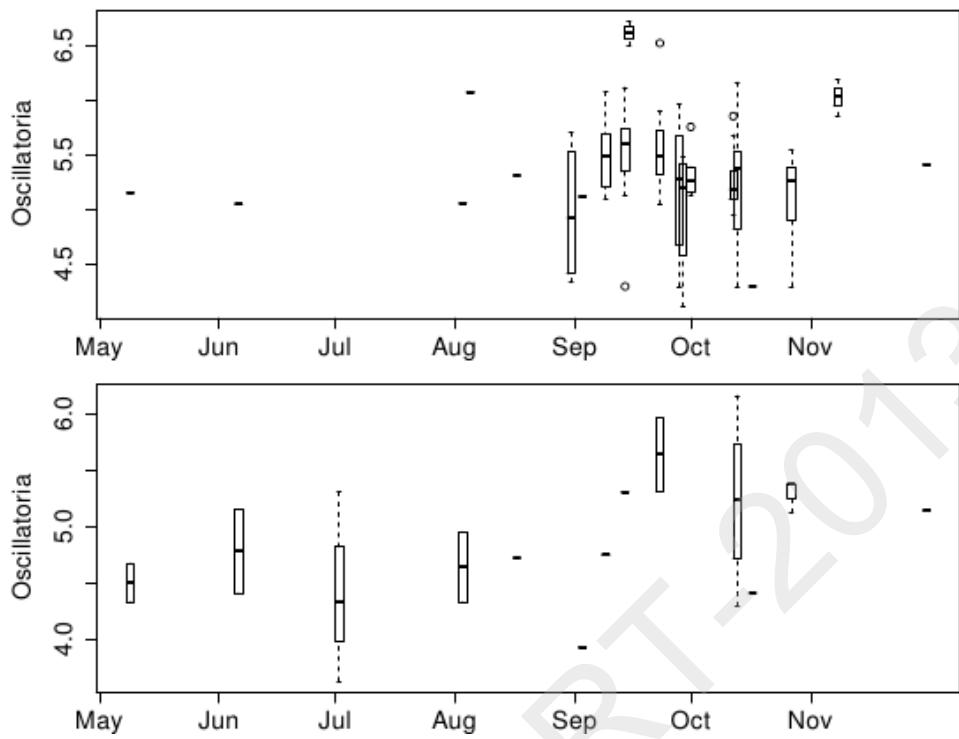


图 4.40 密云水库中颤藻生物量与采样深度之间的关系

与微囊藻相比，颤藻的季节分布特征明显不相同，其最高的生物量在 9 月分测出(图 4.41)，而这时表层水体中微囊藻细胞密度已经降低了，从而提高了水体透明度，允许更多的太阳光进入水体底层供给予颤藻的生长所需。同时，水体的热分层效应开始逐渐解除，垂直对流活动加强，有利于营养盐从底层向表层输送。因此这段时间就成了密云水库中颤藻生长的高风险期。另外，颤藻在水库中的空间分布也不均匀，与微囊藻类似，北部浅水区营养盐相对较高，水体底层光强比其他区域要高很多，自然这个区域也就成了颤藻的高风险区域。



注: a.(上)北部和东北部浅水区, b.(下)西部和南部深水区

图 4.41 密云水库颤藻季节变化

3.3.5 致嗅物质时空分布

蓝藻水华引起的饮用水嗅味问题已经屡见不鲜，在本研究期间就参与调查了多个水源地引起的嗅味问题，比如：洋河水库，密云水库，黄浦江，东太湖，呼和浩特金海水库，澳大利亚 Myponga 水库等等。因此了解环境因子对蓝藻生长和嗅味产生的影响对预测嗅味出现和发展动态与规模，对水质产生的影响评估，以及嗅味物质的控制等至关重要。密云水库嗅味问题具有非常明显的季节性，在近几年来，基本上是在 9 - 10 月份期间检出一定的嗅味物质。季节的变化主要由于太阳光照角度和强度引起，进而影响气温，水温等，接着出现一系列系统的变化。已有一些研究通过实验室模拟实验阐述了温度和光照对蓝藻产嗅的影响，但众口不一，没有一致的看法。此外，实验室培养的蓝藻经过长期培养后，其生理特性与环境水体可能具有较大的差别，因此研究天然水体中嗅味物质的分布，成因和影响因子具有一定环境意义。本研究通过对密云水库连续 4 年的藻类、环境因子以及嗅味物质监测，简要分析了其嗅味问题的来源和成因，为进一步的机理研究奠定基础。

在 2009–2012 年调查期间，水体中能检出嗅味物质的时间比较稳定，一般在秋季出现，并且不同区域的具体时间稍有不同，浅水区相对较早一些，深水区相对延迟两周到一个月时间，然后十月底基本下降至较低的水平，如图 4.42 所示。浅水区的最高浓度可达到 200 ng L^{-1} ，而深水区浓度相对要低很多(数据为表层水体平均值)。图 4.43 为密云水库 2009 年 9 月 3 次调查综合结果分析得出了 MIB 空间分布图，可以看出，MIB 的空间分布并不均匀，主要分布在北部浅水区，南部深水区中层当时也有较高浓度的 MIB 检出，而西部深水区检出浓度非常小。从垂直分布来看，没有发现



十分明显的差别。

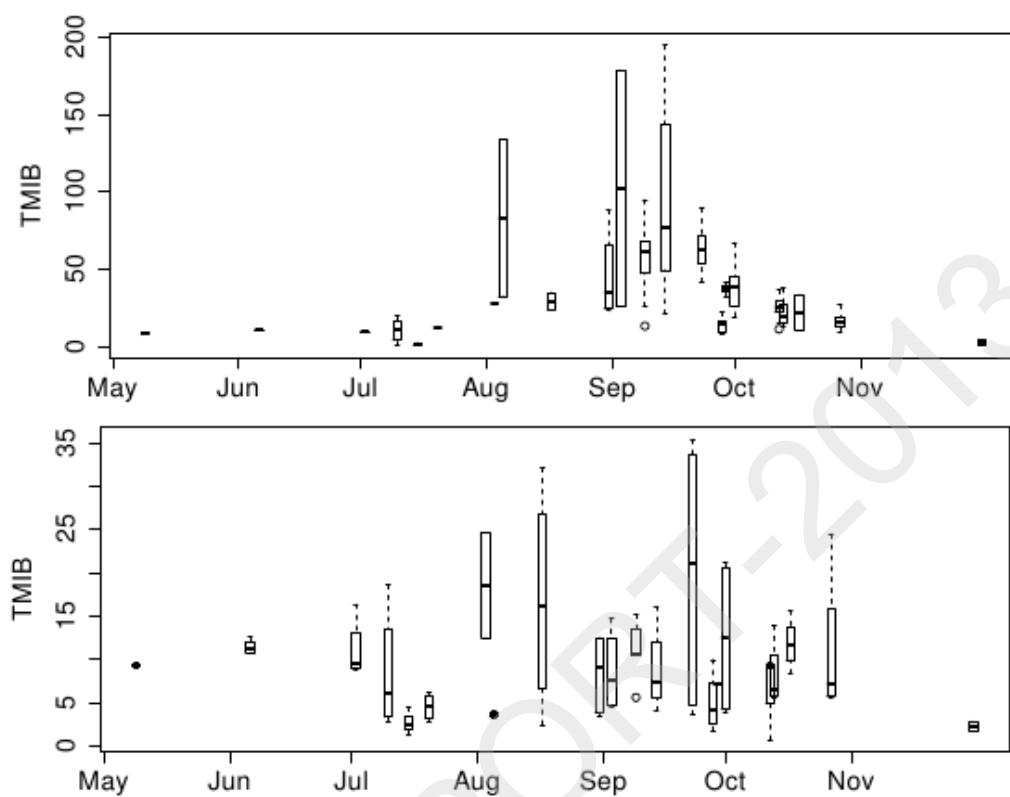


图 4.42 密云水库 2009 - 2012 年致嗅物质总 MIB 季节分布

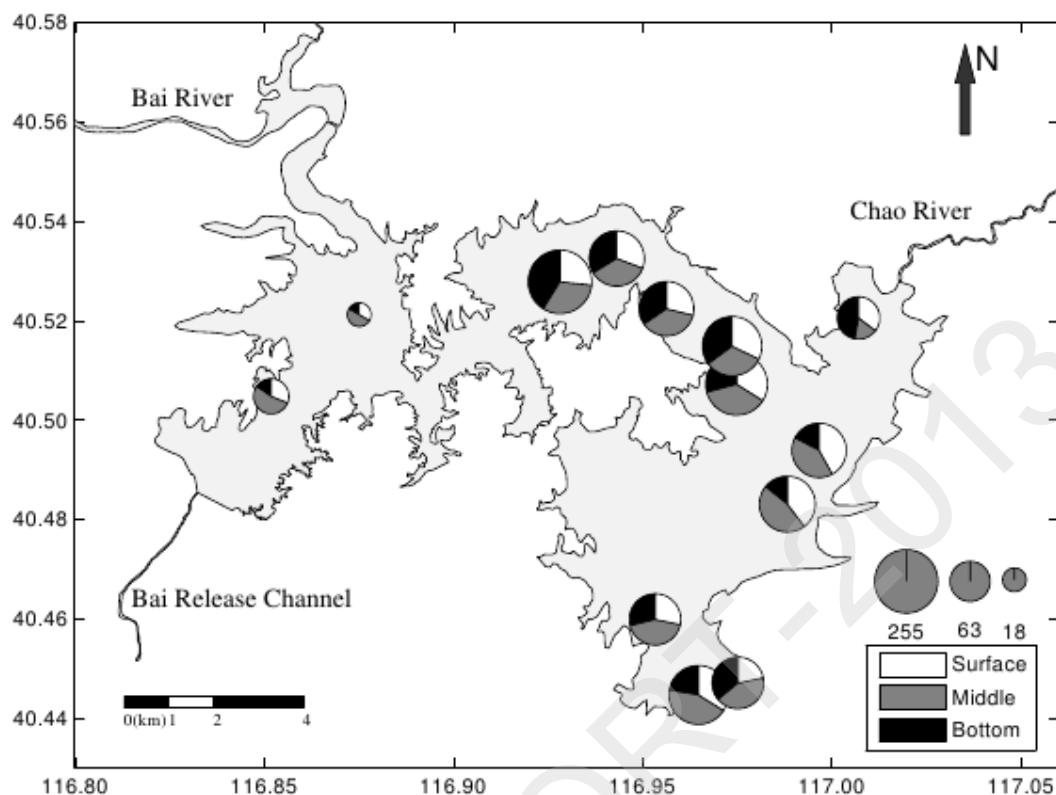


图 4.43 密云水库 2009 年 9 月期间致嗅物质 MIB 的空间分布

3.3.6 致嗅物质的来源解析

已有许多研究表明，水体中 MIB 可由颤藻产生，在本研究中，考察了颤藻生物量和 MIB 之间的相关性，如图 4.44 所示。水体中总 MIB 的浓度随着颤藻生物量的增加明显上升，两者之间显著正相关，但是也存在部分高密度颤藻的样品，MIB 的浓度并不高，这说明颤藻只在特定条件下产生 MIB，或者在某些条件下不产 MIB。

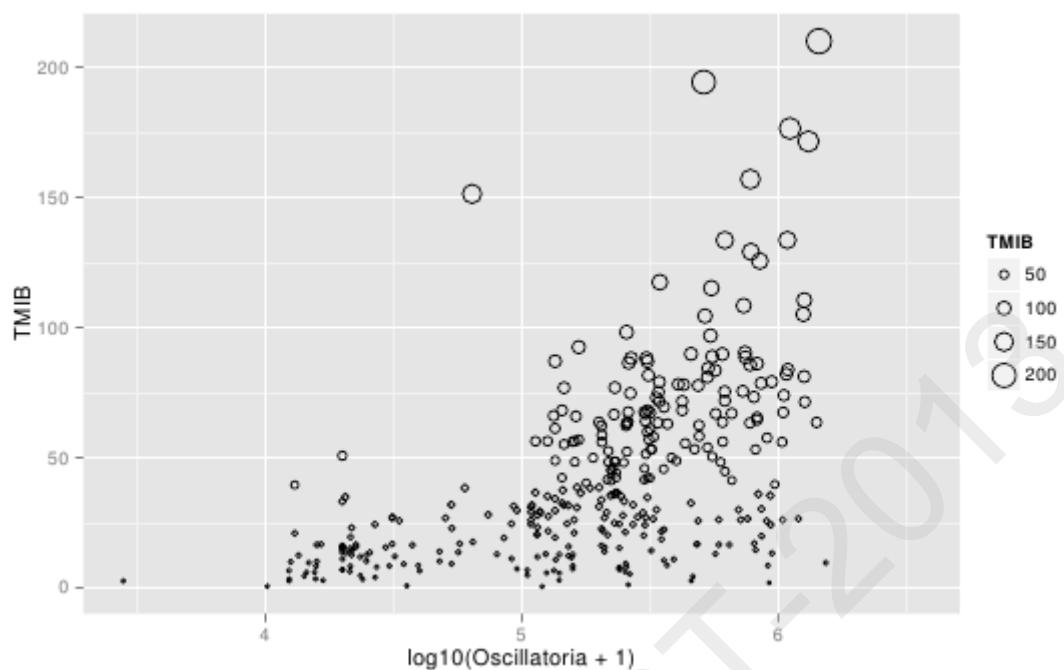


图 4.44 密云水库颤藻与总 MIB 之间的关系

3.3.7 产生致嗅物质的影响因子

图 4.45 和图 4.46 分别为不同溶解性总氮和总磷浓度下对颤藻产 MIB 的影响。可以看出，在颤藻浓度一定的情况下，随着溶解性总氮的升高，颤藻产生的 MIB 浓度减少，具体的机理目前还不清楚。而水体中磷含量的高低与颤藻产 MIB 能力没有明显关系。另外，考察了水体透明度对颤藻产 MIB 的影响，在同一浓度水平的颤藻浓度下，MIB 的浓度并无显著差别，说明透明度只会对颤藻的生长产生影响，而对颤藻产生 MIB 的能力没有影响。颤藻是一种底栖藻，经常附着在水库浅滩底部，在密云水库中，北部浅水区水深较浅，营养盐充足，为颤藻生长提供了良好的条件。一般来说，浅滩的朝向会影响水体底部光强，朝南的样品阳光充足，MIB 产量略微要高出一些。另外，通过数据分析发现，水深对颤藻产 MIB 能力也有一定影响，在同一颤藻密度水平下，MIB 的浓度随水深的增加而降低，这说明在浅滩处生长的颤藻可能导致更严重的嗅味问题，应对浅水区加强监测与调控。在研究中考察了 MIB 的存在形态，藻类释放的 MIB 有一部分存在于细胞中，有一部分则由于细胞死亡溶解至水体中进而被细菌等降解或者挥发大气中。水体中溶解性 MIB 与总 MIB(包含水体中的溶解性 MIB 和细胞体内存在的 MIB)之间存在非常好的相关性，并且，MIB 主要以溶解性 MIB 为主，说明 MIB 在水体中降解时间较长，而另外一种同样有名的嗅味物质 geosmin，在自然环境中降解速度较快，主要分布于细胞体内。

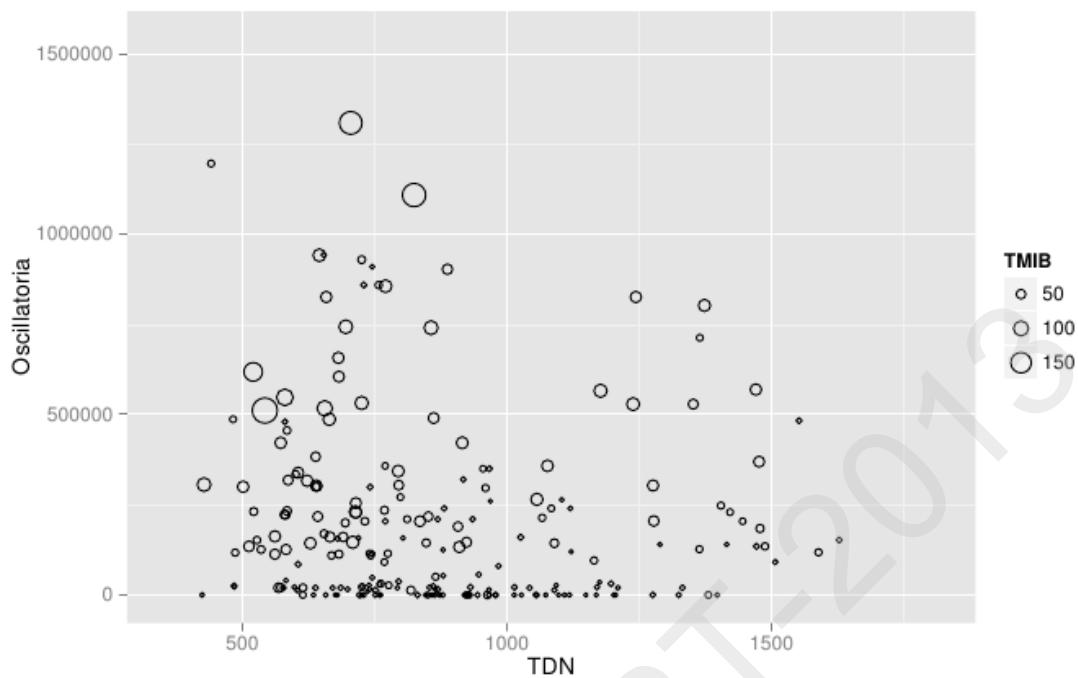


图 4.45 密云水库溶解性总氮对颤藻产 MIB 的影响

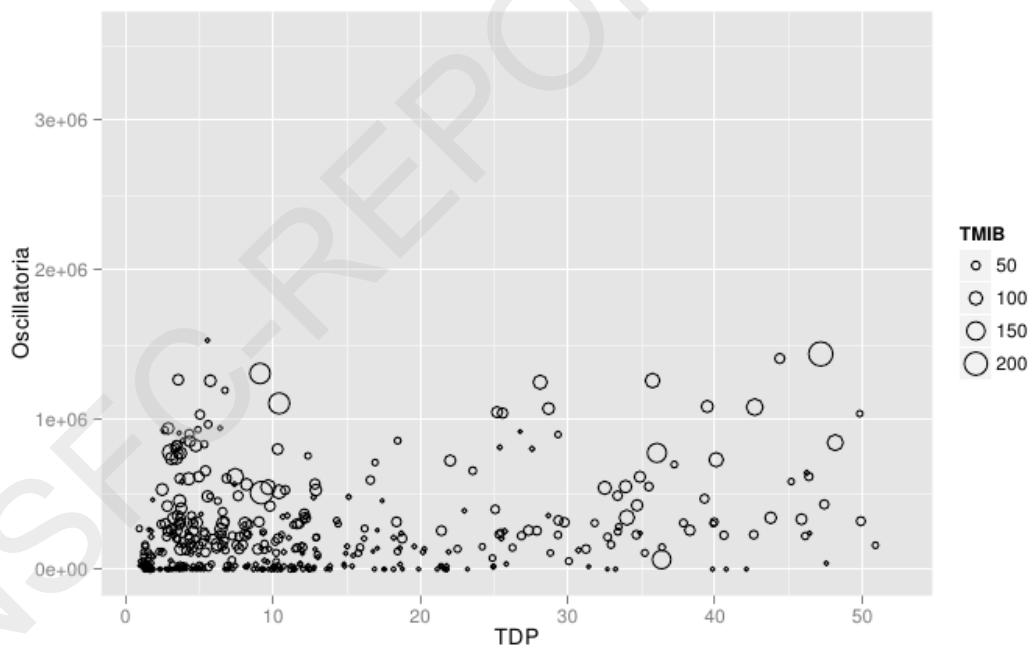


图 4.46 密云水库溶解性总磷对颤藻产 MIB 的影响

3.4 小结

本章主要讨论了密云水库两个重要藻种—微囊藻和颤藻的时空变化与竞争演替关系，研究发现，在 6-9 月期间，由于阳光充足，在水库局部地区(主要为北部浅水区)营养盐含量相对比较高，非常适合微囊藻的生长环境，因此在水库北部浅水区，出现局部微囊藻快速生长，虽然还没有达到水华的水平，但具备发生水华的很多条件，若正好遇上降雨量少，水库水量下降时，则极有可能出现比



较严重的微囊藻水华事件，甚至导致水体微囊藻毒素超标而威胁饮用水水质安全。从 9 月份开始，随着温度的下降，以及表层营养盐的消耗，微囊藻的优势逐渐失去，表层密度的降低增加了水体的透明度，允许更多的阳光进入水体底层，供给底层底栖藻类生长所需。因此，在 9 - 10 月期间，水库局部地区颤藻大量生长。研究发现，水体中微囊藻的生物量与水温有密切关系，水温越高，微囊藻生物量明显增加。另外，微囊藻的大量生长，消耗了水体中大量的 CO₂，导致水体 pH 值上升，并进一步巩固了微囊藻的优势地位。而颤藻的生物量随水深的不同而呈现不同的规律，表层和中层水体中，颤藻生物量与水体中溶解性总磷含量显著正相关，而底层中其生物量与水体透明度/采样点水深(SD/z_{mix})显著正相关。

此外，本章还讨论了密云水库每年 9 - 10 月期间的嗅味问题。经过多年针对密云水库藻类与致嗅物质的系统研究，发现了北部浅水区由于营养盐充足，水深较浅，并且水流缓慢，非常适应颤藻生长，并产生相对较高浓度的 MIB。对所有数据的颤藻生物量与 MIB 浓度进行回归分析，发现两者显著正相关，并根据已有的大量关于颤藻产 MIB 实例的报导，基本上可以确定密云水库中嗅味物质 MIB 的主要生产者为颤藻。进一步的研究发现，水体中氮含量的高低会影响颤藻产 MIB 的能力，水体中氮含量较高的样品，其颤藻的 MIB 产值相对较低，另外，颤藻生长的浅滩朝向对颤藻的 MIB 产值也具有一定影响，发现朝南的浅滩阳光相对充足，产生的 MIB 相对较高。而其他的环境因子，如水温、pH 溶解性总磷、透明度等没有显示出对颤藻产嗅能力的影响。

总体来说，密云水库北部浅水区为潜在有害藻微囊藻和颤藻的高风险区，并在一定条件下可能导致水体中的微囊藻毒素和嗅味问题，甚至在水流的影响下，可能将水质问题扩散至更广的区域，威胁到饮用水水质安全，需要引起更大的关注。



第四章 藻类时空动态模型及代谢产物影响因子解析

4.1 藻类时空动态模型

本研究将湖泊水质模型 SALMO 与水动力模型 SELFE 进行耦合, 建立了湖库三维藻类动态模型。利用非结构三角形网格, 将模拟水体划分为计算单元。在每个单元内, SELFE 模型将物质对流和水体体积等信息提供给 SALMO 模型, 后者计算得到下一天的溶解氧(DO)、硝酸盐(NO_3^-)、磷酸盐(PO_4^{3-})、底质(D)、浮游动物生物量(Z)以及三种藻类生物量(硅藻、绿藻和蓝藻)等, 并更新单元水质。采用建立的模型, 对太湖 2009-2011 年的藻类时空变化进行了模拟。

4.1.1 模拟区域及网格划分

模拟区域为太湖主湖区, 南北长 68.5 km, 东西平均宽 34 km, 最宽处 56 km, 在正常水位条件下, 水面面积为 2338.1 km^2 , 平均水深为 1.89 m, 最大水深为 2.6 m, 水量交换系数为 1.2, 平均换水周期为 300 天, 是一个典型的浅水湖泊。

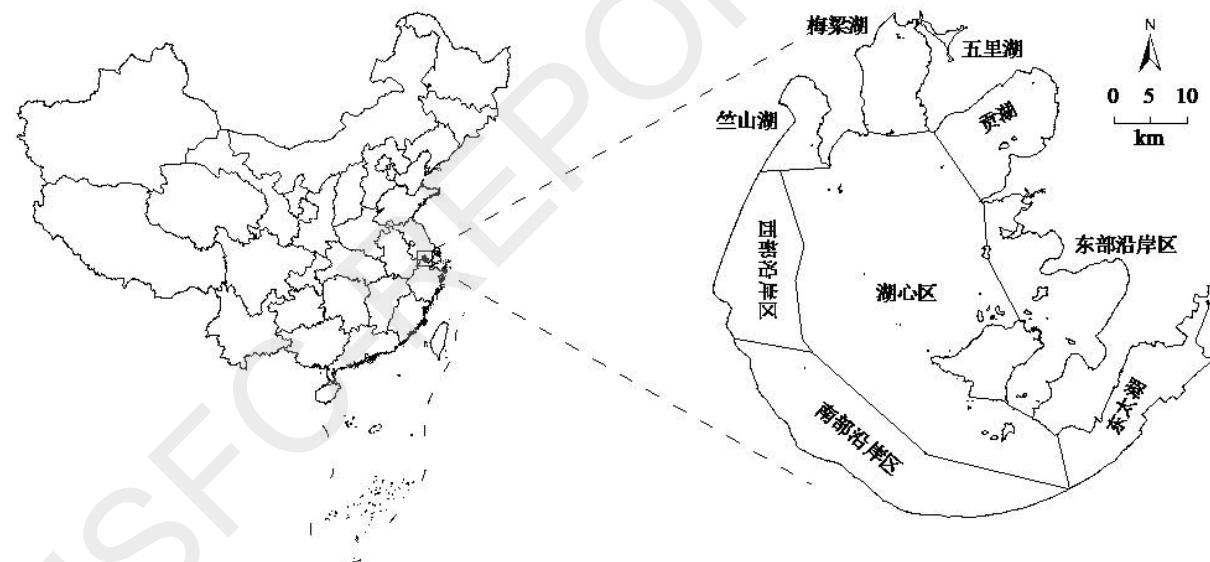


图 5.1 太湖地理位置和湖区划分

在水平方向上, 利用三角形网格对太湖进行划分, 得到 8181 个单元和 4461 个结点; 在竖直方向上, 采用纯 S 坐标将太湖水体划分为 5 段。由于太湖周边河网复杂, 环湖河流众多, 为了建模方便, 将环湖河流酌情简化为 19 条, 并对测站进行编号。

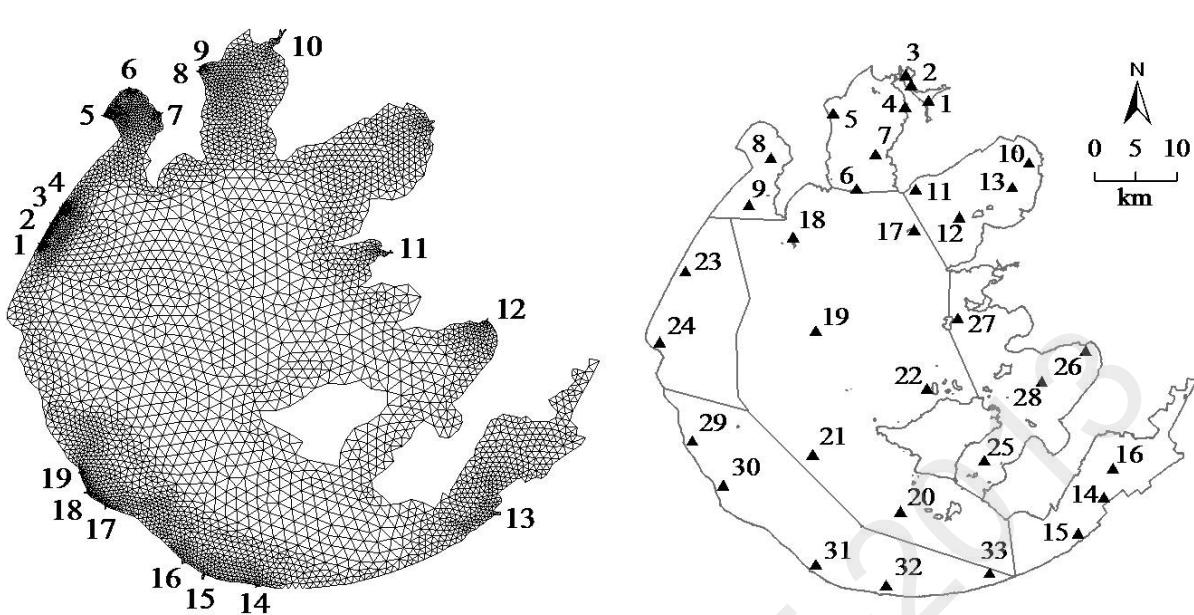


图 5.2 太湖监测站点分布和网格划分

湖区内共有监测站点 33 个，由于目前五里湖与梅梁湖之间有大坝隔开，基本无水量交换，因此本研究只考虑剩余 8 个湖区中的 30 个站点。

4.1.2 水动力模型的参数设置

- 时间步长: 240s;
- 起止时刻: 2009 年 1 月 1 日 0 时至 2011 年 12 月 1 日 0 时, 共 1064 天;
- 隐式因子 : 0.6;
- 正压/斜压: 斜压;
- 干湿判断临界水深: 1cm;
- 水底摩擦系数: 0.0025[41];
- 紊流闭合模型: GLS;
- 边界条件: 19 条环湖河流, 入流为流量, 出流为水位;
- 最大流速: 10m/s;
- 风场: 3.0 m/s (3 至 8 月, 东南风), 2.4 m/s(9 至 11 月, 东北风), 2.4 m/s (12 至次年 2 月, 西北风);



4.1.3 生态模型SAMLO的参数设置

SALMO 模型共有 101 个参数，通过灵敏度分析，选取了对藻类生物量影响最大的 30 个参数进行率定，优化后的参数取值，如

表 5.1 所示：

表 5.1 优化后的参数取值

参数 符号	G I	G MAX	G MIN	RZ MIN	RZT MIN	R XMF	K P_1	KP P_2	KP P_3	PFA ₁
未优 化值	0 .8	1.3 6	0.2 8	0.0	0.05	0.3 .7	1 2	9.5 1.7		1.0
优化 值	0 .8	1.3 6	0.2 8	0.0	0.05	0.3 2	2.5 4			0.8

P FA ₂	P FA ₃	P AX ₁	PHOM MAX ₂	PHO MAX ₃	PHO MIN ₁	PHO MIN ₂	PHO MIN ₃	PHO OPT ₁	RXT
1 .0	0 .3	2.37	3.3	2.37	0.17	0.35	0.0	0.06	
0 .7	0 .2	3.2	3.3	4	0.17	0.35	0.0	0.06	

RXT OPT ₂	RXT OPT ₃	TOPT A ₁	TO PTA ₂	TOP TA ₃	V A ₁	V A ₂	V A ₃	V A ₁	Y A ₂	Y A ₃	YA
0.06	0.06	17	22	29	0	0	0	0	0.	0.	0.
0.096	0.09	19.99	23	29.44	.017	.016	.01	5	3	8	

4.1.4 水动力模型验证

选取太浦口、西山、夹浦、小梅口等 4 个水位监测点，对水动力模型结果进行水位验证，结果表明：4 个验证点的模拟水位与实测水位符合程度均较好，水动力模型参数设置合理，能够满足求解需要。

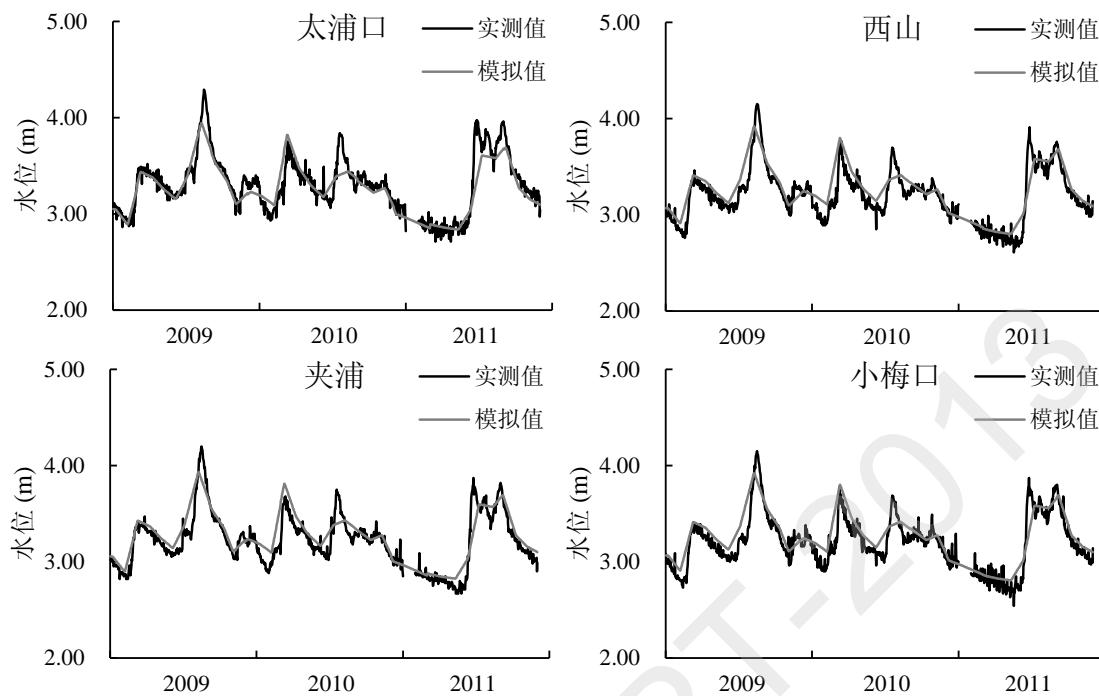


图 5.3 模拟水位与实测水位对比

4.1.5 水生态模型验证

模拟的水质指标主要包括：硝酸盐、磷酸盐、溶解氧浓度，以及硅藻、绿藻和蓝藻生物量。每个湖区选取一个代表性站点对模拟结果进行说明，如下图所示：

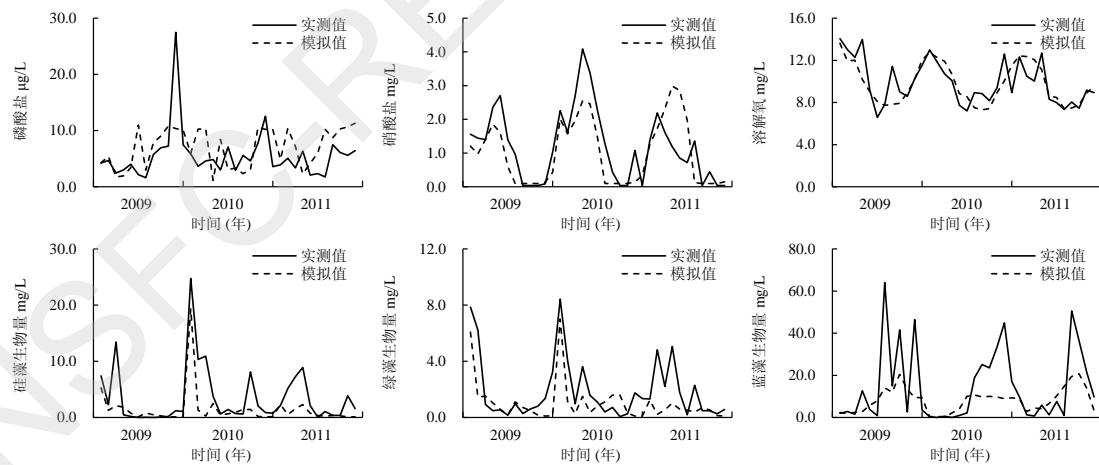


图 5.4 7 号点（梅梁湖）模拟值与实测值对比

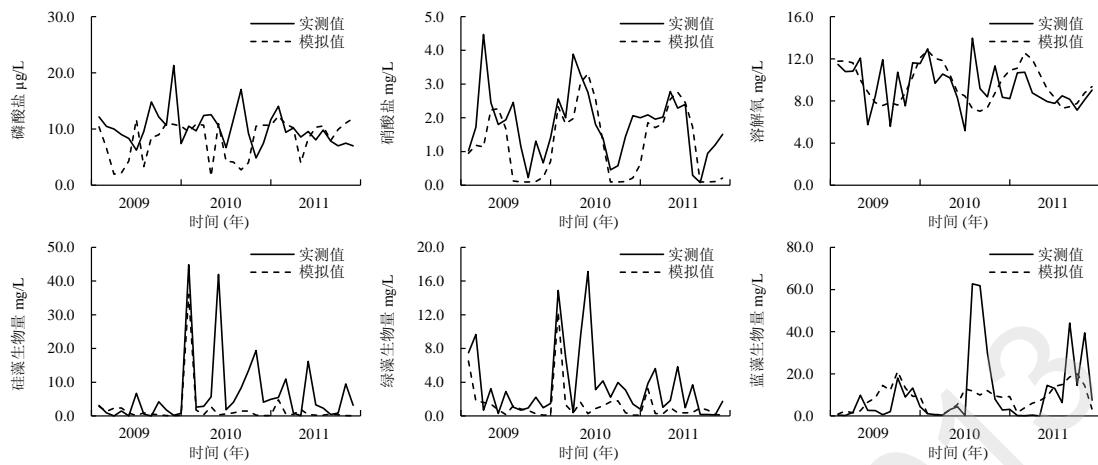


图 5.5 8 号点 (竺山湖) 模拟值与实测值对比

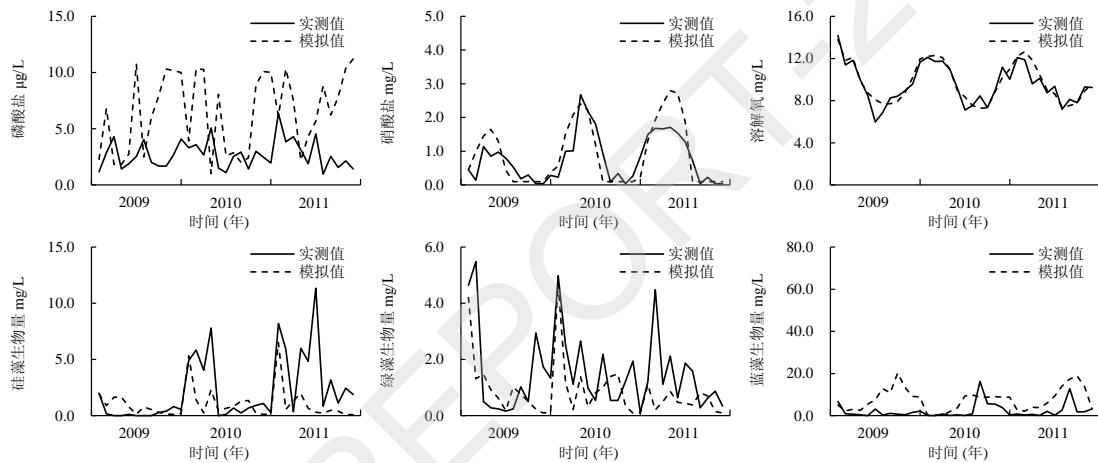


图 5.6 13 号点 (贡湖) 模拟值与实测值对比

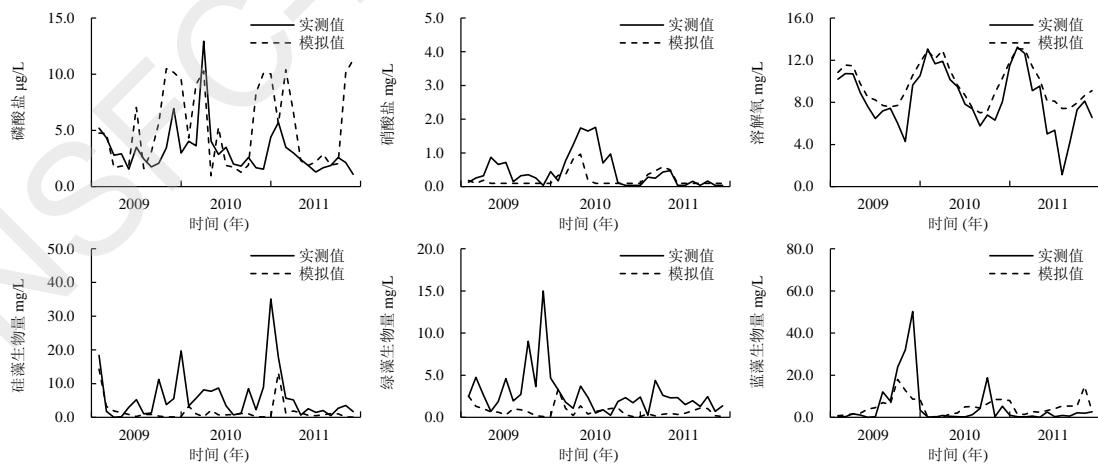


图 5.7 14 号点 (东太湖) 模拟值与实测值对比

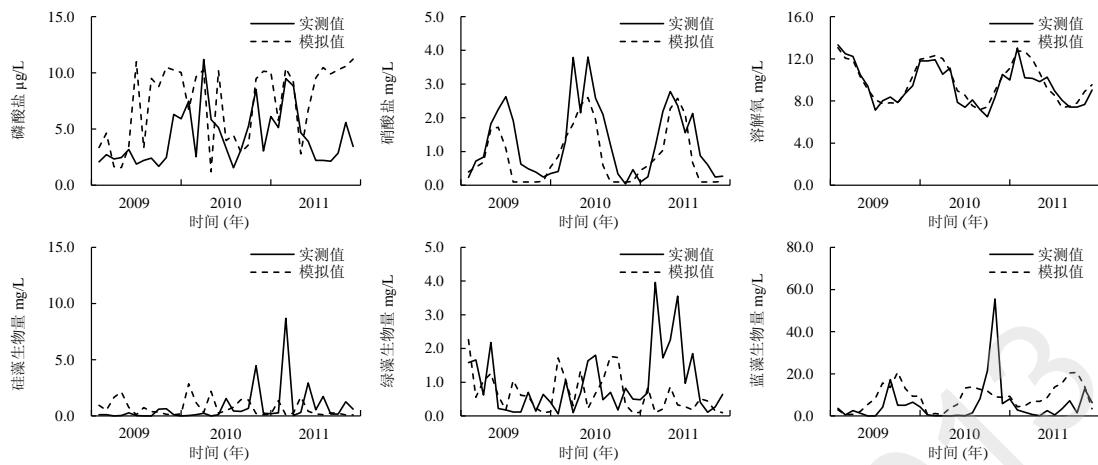


图 5.8 19 号点（湖心区）模拟值与实测值对比

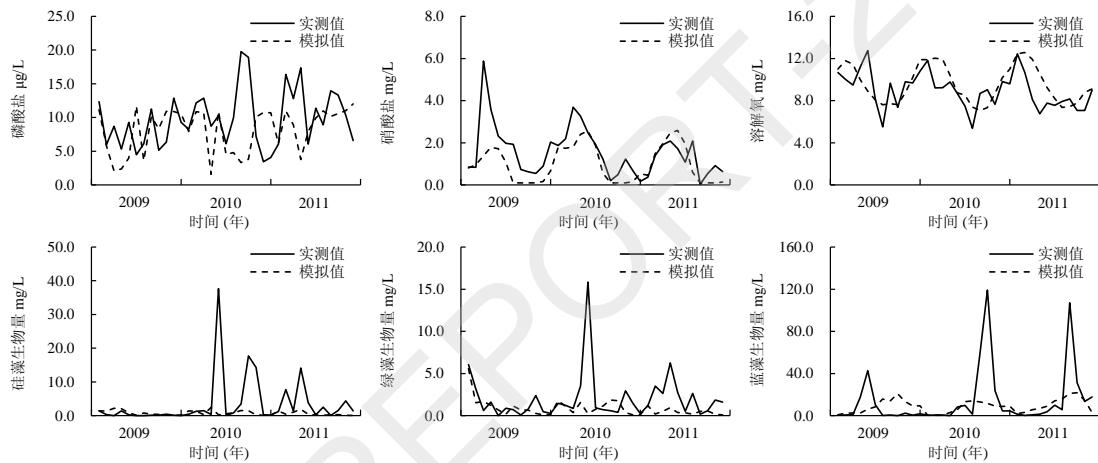


图 5.9 23 号点（西部沿岸区）模拟值与实测值对比

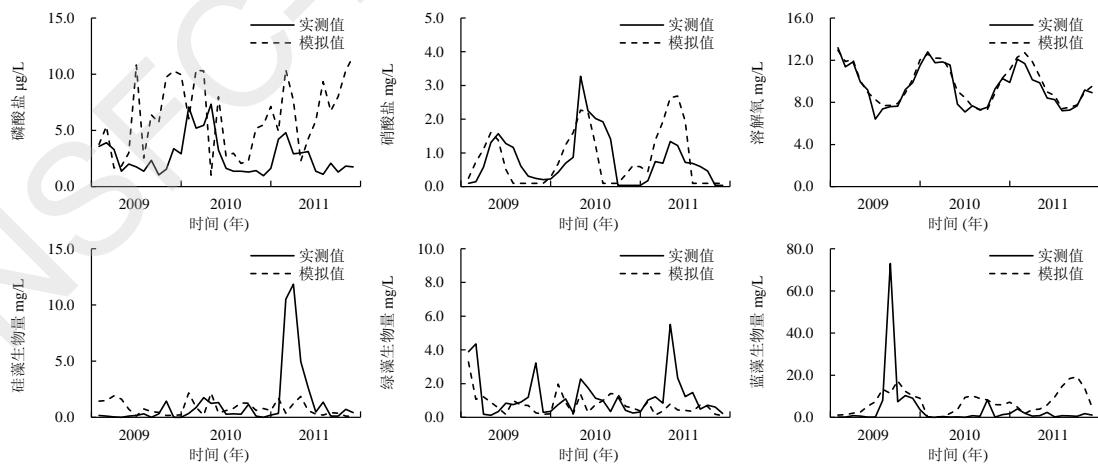


图 5.10 28 号点（东部沿岸区）模拟值与实测值对比

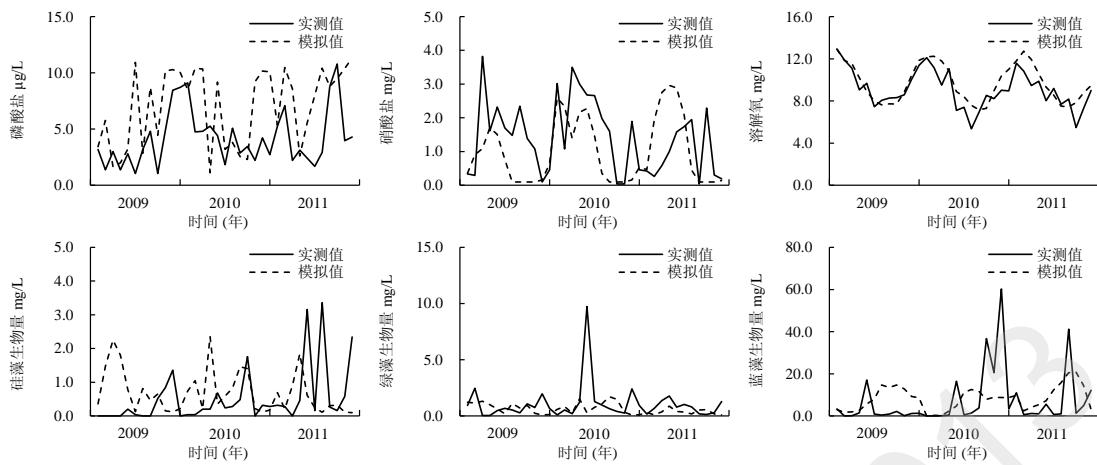


图 5.11 31 号点（南部沿岸区）模拟值与实测值对比

由上述各图可知，模型能够较好地模拟各水质因子的变化情况，模拟值与实测值比较接近，结果令人满意。

4.2 湖库中微囊藻毒素的产生及可能的影响因素

4.2.1 水中藻毒素的前处理

藻毒素分析检测方法目前国际上最常用是 HPLC，一般水体中水溶性的藻毒素浓度为 ppb 级，浓度较低，无法直接用高效液相色谱法进行分析，所以为使水体中痕量的藻毒素能够被 HPLC 检出，环境水样中的藻毒素必须首先通过固相萃取（SPE）对其进行浓缩和纯化，使其达到 HPLC 的分析检测范围，并消除大部分干扰杂质。固相萃取的浓缩纯化富集过程主要包括以下步骤：

过滤水样：利用不锈钢换膜过滤器（或溶剂过滤器）过滤一定体积的水样，保留滤膜和滤液（滤膜可用于测定藻生物量等）。

活化柱子：取 C18 固相萃取柱固定于固相萃取装置上，先用 10 mL 甲醇（分 3 次，每次 5 min）常压淋洗，再用 10mL 高纯水（分 3 次，每次 5 min）常压淋洗，使固相萃取柱的活性点位充分释放，最后一次用水活化完毕后，向小柱内灌满水，整个过程要保证萃取柱的吸附剂全部浸在水中，不能与空气接触。

富集藻毒素：取一定体积经过滤的水样，用活化后的固相萃取柱富集，富集的流速保持在 5 mL/min 左右，并且在整个富集的过程中也要保证萃取柱的吸附剂不与空气接触。

洗脱藻毒素：全部水样经固相萃取柱富集后，先用 10 mL 超纯水、10 mL 10% 的甲醇溶液淋洗固相萃取柱 2~3 遍，消除部分杂质，然后用 10~20 mL 80% 甲醇分 3 次洗脱萃取柱上的藻毒素至浓缩瓶中，最后在氮吹仪中用高纯氮吹脱浓缩至 0.5 mL 以下，定容至 0.5 mL 待测。

4.2.2 藻细胞中藻毒素的前处理

传统藻细胞中藻毒素的提取一般包括细胞的浓缩、细胞破碎与毒素释放、冷冻离心、过滤、固相萃取、洗脱、水浴、藻毒素样品制备等步骤，不仅操作过程复杂，操作要求高，并且周期长，

成本高昂，获得藻毒素量也较少。

根据藻毒素研究中对胞内藻毒素提取的需求并结合传统藻毒素提取过程，优化了藻毒素的提取方法。具体方法和步骤如下：

固液分离浓缩藻细胞：取一定量的藻细胞培养液，用不锈钢换膜过滤器过滤，保留滤液以及过滤膜，把富集了藻细胞的滤膜放入自封袋里，密封并于冰柜内-20℃冷冻保存；

藻细胞破碎及藻毒素的提取：取出冷冻的藻细胞，放入室温下融化，融化后再放入冰箱-20℃保存，反复此过程3次，将膜放入100 ml 离心管中，想离心管中加入30 ml 80%甲醇/水溶液，放入恒温振荡箱内振荡3 h (30°C, 160~170 r/min)，将振荡后的甲醇水溶液倒入500 ml 烧杯中，滤膜保留在离心管中，再向离心管中加入30ml 80%甲醇/水溶液，放入恒温振荡箱内振荡3 h，此过程重复3次。将3次的甲醇水溶液倒入烧杯中，将烧杯放入恒温水浴锅中，80°C水浴浴直接蒸发去除甲醇和一些热不稳定性杂质至10 ml 左右（确保没有甲醇）。拿出冷却至室温，用溶剂过滤器过滤，滤液用C18小柱富集（同水样的富集）。

4.2.3 色谱分析方法

采用安捷伦 6460 QQQ 高效液相色谱质谱联用仪 (HPLC/MS/MS) 并配 ODS 色谱柱 (Cosmosil 5C18-AR, 4.6×150 mm, Nacalai, Japan) 检测分析微囊藻毒素的三种主要的异构体 MC-LR, MC-RR 和 MC-YR 的含量。MC-LR, MC-RR 和 MC-YR 是自然界中普遍存在的微囊藻毒素的三种异构体，其中 L、R、Y 分别代表亮氨酸、精氨酸和酪氨酸。流动相 A 为甲醇，流动相 B 为 0.1% 甲酸水溶液，流速为 0.5 mL min⁻¹，柱温为 40°C，梯度洗脱程序为(t 分钟(A))： $t_0 = 80\%$ ； $t_3 = 65\%$ ； $t_5 = 65\%$ ； $t_7 = 35\%$ ； $t_8 = 35\%$ ； $t_{8.5} = 80\%$ ； $t_{12} = 80\%$ 。目标成分在色谱柱分离后直接进入正离子 ESI 模式下的三重四级杆质谱检测器。氮气用作两级干燥和屏蔽气体以及碰撞气体。离子源参数设置如下：气体温度 350°C，气体流速 11 L min⁻¹，喷雾器气体压力 50 psi，毛细管电压 5 kV。样品检测在多反应检测模式 (MRM) 进行，delta EMV 设为 (+) 400。碰撞电压 (100-250 V) 和碰撞能量 (20-100 eV)。根据每种化合物成分不同而设置。

利用 Musshunter 软件控制仪器并进行数据处理和分析。三种异构体的标准曲线 $R^2 > 99\%$ ，通过与标准样品的测试曲线对比获得 MCs 浓度（标准样品 MC-LR, MC-RR 和 MC-YR 来自 AXXORA, EUROPE –Switzerland）。三种异构体含量之和即为微囊藻毒素的含量。

2013 年秋季，分别对太湖、洋河进行了采样，采样点的分布见图 5.12 和图 5.13。

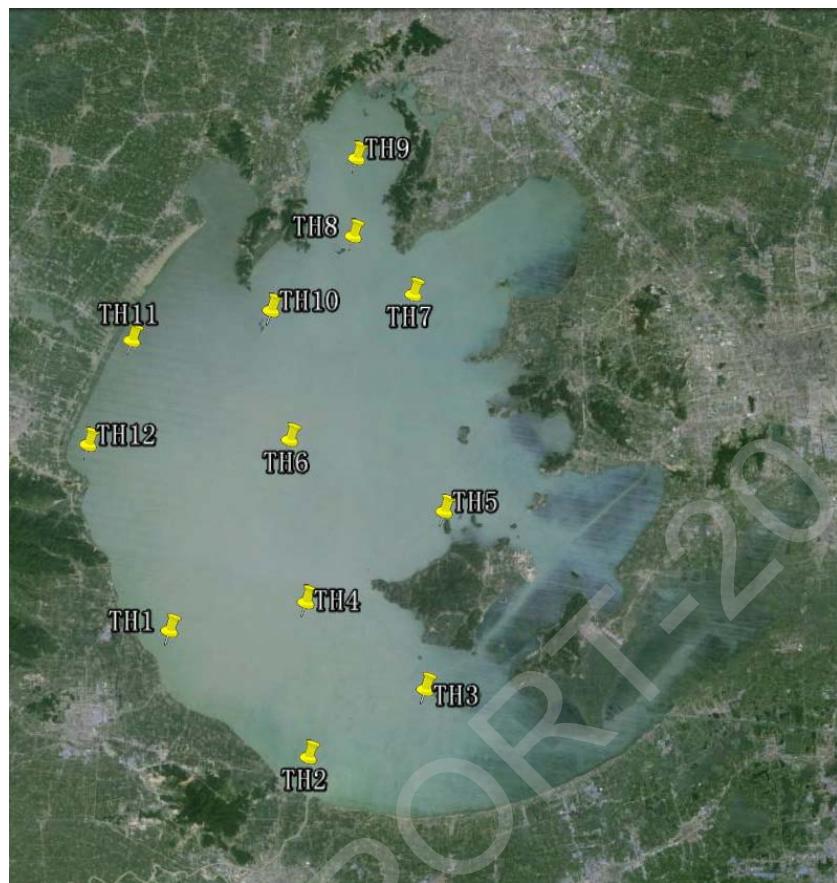


图 5.12 太湖采样点分布图



图 5.13 洋河采样点分布图

太湖秋季水中微囊藻毒素含量为 $130.4 \pm 42.6 \text{ ng/L}$, 洋河水中微囊藻毒素的含量则为 $129.2 \pm 83.0 \text{ ng/L}$, 而太湖和洋河蓝藻细胞内的微囊藻毒素分别为 $786.7 \pm 1249.1 \text{ ng/L}$ 和 $3243.9 \pm 6703.6 \text{ ng/g}$

ng/L(图 5.14)。从中可以看出蓝藻细胞内的微囊藻毒素远大于水体中的含量。水体中的微囊藻毒素是由细胞内的微囊藻毒素释放产生的，因此蓝藻细胞内微囊藻毒素含量高的点本应该与水中的微囊藻毒素高的点一一对应。然而部分采样点蓝藻内微囊藻毒素含量较高，水中也较高，例如 YH1 的蓝藻细胞内微囊藻毒素含量最高，水中也最高，分别为 16923. ng/L 和 297. 3 ng/L；部分采样点例如 YH5 的水中微囊藻毒素含量最低，对应的蓝藻细胞内的微囊藻毒素含量却不是最低的。因此，水中微囊藻毒素含量，不只有蓝藻细胞内微囊藻毒素决定，还受水体的其他水质指标影响。水质指标可能对微囊藻毒素由蓝藻细胞释放到水体中起到调控作用。

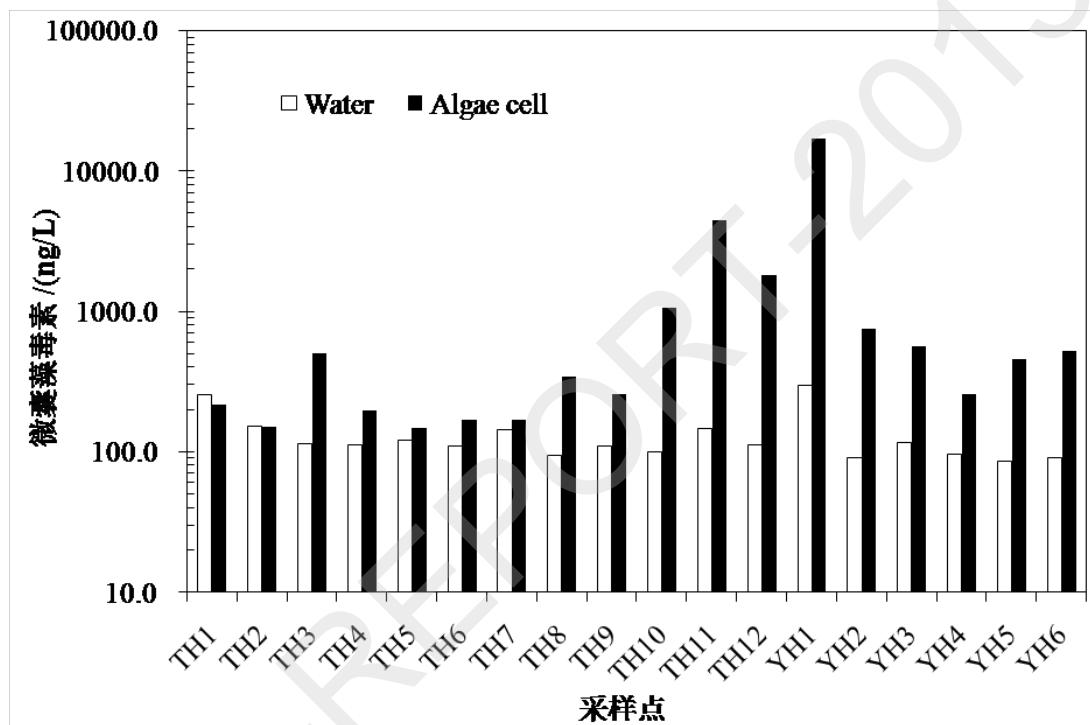


图 5.14 太湖、洋河水中及蓝藻细胞中微囊藻毒素的含量

通过分析太湖水质指标和水中、蓝藻细胞中的微囊藻毒素的相关关系(表 5.2)可知，太湖水中的微囊藻毒素和各水质指标不存在显著地相关关系，而蓝藻细胞中微囊藻毒素的却和温度、化学需氧量、硝态氮存在显著地相关关系，说明水质指标温度、硝态氮是影响蓝藻细胞内微囊藻毒素的重要因素。这些因素如何影响细胞内微囊藻毒素的产生还待进一步研究。

通过分析洋河水质指标和水中、蓝藻细胞中的微囊藻毒素的相关关系(表 5.3)可知，洋河水和蓝藻细胞内的微囊藻毒素存在极显著的相关关系，而它们与水质指标均不存在显著地相关关系，说明洋河水中微囊藻毒素的含量主要由蓝藻细胞内的含量决定。

由以上对太湖和洋河的分析可知，水中和蓝藻细胞内微囊藻毒素含量的影响因素较为复杂，不同的湖泊呈现不同的规律和特征。洋河水中的微囊藻毒素主要受到蓝藻细胞内的微囊藻毒素影响，而太湖却没有类似的规律。太湖蓝藻细胞内的微囊藻毒素受到部分水质指标(温度、硝态氮等)的影响，而洋河没有明显影响。从饮水安全的角度来说，太湖和洋河水中的微囊藻毒素均没有超过 WHO



关于饮用水的标准 $1 \mu\text{g/L}$ ，但是部分采样点蓝藻细胞内的微囊藻毒素含量确远远高于此标准值。由于普通水处理工艺例如混凝会使蓝藻细胞破裂从而释放大量的微囊藻毒素到水体中，因此微囊藻毒素污染对饮水安全仍然存在一定的威胁。

NSFC-REPORT-2013



表 5.2 太湖水质指标与水中、蓝藻细胞中的微囊藻毒素的相关性(Pearson 相关系数)

	T emp	C ond	S al	p H	C rp	T uibid	D O	C OD	C hla	C O2	N O3	N N	水中 MCs	蓝藻细胞中 MCs
水中 MCs	1	-.002
	411	424	413	.482	.337	303	.540	233	233	.029	114	376		
蓝藻细胞中 MCs	-.002	1

注: Temp, 温度; Cond, 电导率; Sal, 盐度; Orp, 氧化还原电位; Tuibid 浊度; DO, 溶解氧; COD, 化学需氧量; Chla, 叶绿素; NO2, 亚硝态氮; NO3, 硝态氮; TN, 总氮; MCs, 微囊藻毒素; *, P < 0.05; **, P < 0.01

表 5.3 洋河水质指标与水中、蓝藻细胞中的微囊藻毒素的相关关系

	T emp	C ond	S al	p H	C rp	T uibid	D O	C OD	C hla	C O2	T O3	N N	水中 MCs	蓝藻细胞中 MCs
水中 MCs	-	1	.992**
	.700	499	242	.478	.242	418	.618	.169	473	156	.175	.561		
蓝藻细胞中 MCs992*	1



参考文献

- [1] R. Wetzel. Limnology, 3 E. Lake and River Ecosystems. Academic Press, 525 B Street, Ste. 1900, San Diego, CA 92101, USA. 850. 2001:850
- [2] B. W. Touchette, J. M. Burkholder, E. H. Allen, et al. Eutrophication and Cyanobacteria Blooms in Run-of-river Impoundments in North Carolina, Usa. Lake and Reservoir management. 2007, 23(2):179–192 [3] L. M. Botana. Phycotoxins: Chemistry and Biochemistry. Wiley-Blackwell, 2008
- [4] Z. Li. Algal Population Dynamics and Occurrence of Harmful Metabolites in the Typical North China Source Water Reservoirs. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, 2008 [5] 胡洪钧, 魏印心.中国淡水藻类 - 系统、分类及生态.北京: 科学出版社, 2006
- [6] G. Prescott. Algae of the Western Great Lakes Area: Exclusive of Desmids and Diatoms. Cranbrook Institute of Science, 1951
- [7] E. G. Bellinger. A Key to the Identification of the more Common Algae Found in British Freshwaters. Water Treatment and Examination. 1974, 23:76–131
- [8] H. U. Ling, P. A. Tyler. Australian Freshwater Algae (exclusive of Diatoms). vol. 5. Antarctic Division, Channel Highway, Kingston, TAS, 7050, USA: J. Cramer in der Gebrueder Borntraeger Verlagsbuchhandlung, 2000:1–643 [9] J. Komárek, B. Fott. Das Phytoplankton Des Süsswassers 7. vol. 16. E. Schweizerbart.sche Verlagsbuchhandlung, 1983
- [10] J. Komárek, K. Anagnostidis. Cyanoprokaryota 1. vol. 19(1). DEU, 1998
- [11] C. Battocchi, C. Totti, M. Vila, et al. Monitoring Toxic Microalgae Ostreopsis (dinoflagellate) Species in Coastal Waters of the Mediterranean Sea Using Molecular Pcr-based Assay Combined with Light Microscopy. Marine Pollution Bulletin. 2010, 60(7):1074–1084 [12] I. Saadoun, K. K. Schrader, W. T. Blevins. Identification of Geosmin as a Volatile Metabolite of *Anabaena sp.* Journal of Basic Microbiology. 2001, 41(1):51–55
- [13] H. Kuosa. A Bloom of the Blue-green Alga *Anabaena lemmermannii*-var-*minor* Nostocophyceae in the Gennarbyviken Fresh-water Reservoir Southern Finland. Memoranda Societatis pro Fauna et Flora Fennica. 1991, 67:147–149
- [14] L. Krienitz, A. Ballot, C. Wiegand, et al. Cyanotoxin-producing Bloom of *Anabaena*

flos-aquae, *Anabaena discoidea* and *Microcystis aeruginosa* (cyanobacteria) in Nyanza Gulf of Lake Victoria, Kenya. *Journal of Applied Botany-Angewandte Botanik.* 2002, 76(5–6):179–183 [15] B. Sabour, M. Loudiki, B. Oudra, et al. Dynamics and Toxicity of *Anabaena aphanizomenoides* (cyanobacteria) Waterblooms in the Shallow Brackish Oued Mellah Lake (morocco). *Aquatic Ecosystem Health & Management.* 2005, 8(1):95–104

[16] R. B. Sotero-Santos, E. G. Carvalho, M. J. Dellamano-Oliveira, et al. Occurrence and Toxicity of an *Anabaena* Bloom in a Tropical Reservoir (southeast Brazil). *Harmful Algae.* 2008, 7(5):590–598

[17] Z. Li, J. Yu, M. Yang, et al. Cyanobacterial Population and Harmful Metabolites Dynamics During a Bloom in Yanghe Reservoir, North China. *Harmful Algae.* 2010, 9(5):481–488

[18] G. Hotzel, R. Croome. Long-term Phytoplankton Monitoring of the Darling River at Burtundy, New-south-wales - Incidence and Significance of Cyanobacterial Blooms. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research.* 1994, 45(5):747–759 [19] K. Rodenacker, P. Gais, U. Jutting, et al.(Semi-) Automatic Recognition of Microorganisms in Water. 345 E 47TH ST, NEW YORK, NY 10017 USA: IEEE, 2001:30–33

[20] E. R. Christensen, K. O. Kusk, N. Nyholm. Dose-response Regressions for Algal Growth and Similar Continuous Endpoints: Calculation of Effective Concentrations. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 2009, 28(4):826–835

[21] J. M. Rinta-Kanto, A. J. A. Ouellette, G. L. Boyer, et al. Quantification of Toxic *Microcystis* spp. During the 2003 and 2004 Blooms in Western Lake Erie Using Quantitative Real-time Pcr. *Environmental Science & Technology.* 2005, 39(11):4198–4205 [22] J. Rasmussen, S. Giglio, P. Monis, et al. Development and Field Testing of a Real-time Pcr Assay for Cylindrospermopsin-producing Cyanobacteria. *Journal of Applied Microbiology.* 2008, 104(5):1503–1515

[23] K. J. Bergsland, R. Haselkorn. Evolutionary Relationships Among Eubacteria, Cyanobacteria, and Chloroplasts: Evidence from the rpoC1 Gene of *Anabaena* sp. Strain Pcc 7120. *Journal of Bacteriology.* 1991, 173(11):3446–3455

[24] B. Palenik, R. Haselkorn. multiple Evolutionary Origins of Prochlorophytes, the Chlorophyll B-containing Prokaryotes. *Nature.* 1992, 355(6357):265–267

[25] K. M. Fergusson, C. P. Saint. Molecular Phylogeny of *Anabaena circinalis* and its Identification in Environmental Samples by Pcr. *Applied and Environmental Microbiology.* 2000,

- 66(9):4145–4148 [26] S. Innok, M. Matsumura, N. Boonkerd, et al. Detection of *Microcystis* in Lake Sediment Using Molecular Genetic Techniques. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2005, 21:1559–1568 [27] Y. R. Marbun, H.-K. Yen, T.-F. Lin, et al. Rapid On-site Monitoring of Cylindrospermopsin-producers in Reservoirs Using Quantitative Pcr. *Sustainable Environment Research*. 2012
- [28] D. E. Cane, R. M. Watt. Expression and Mechanistic Analysis of a Germacradienol Synthase from *Streptomyces coelicolor* Implicated in Geosmin Biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003, 100(4):1547–1551
- [29] B. Gust, G. L. Challis, K. Fowler, et al. Pcr-targeted *Streptomyces* Gene Replacement Identifies a Protein Domain Needed for Biosynthesis of the Sesquiterpene Soil Odor Geosmin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003, 100(4):1541–1546 [30] D. E. Cane, X. He, S. Kobayashi, et al. Geosmin Biosynthesis in *Streptomyces avermitilis*. Molecular Cloning, Expression, and Mechanistic Study of the Germacradienol/geosmin Synthase. *The Journal of antibiotics*. 2006, 59(8):471–479
- [31] J. Jiang, X. He, D. E. Cane. Geosmin Biosynthesis. *Streptomyces Coelicolor* Germacradienol/germacrene D Synthase Converts Farnesyl Diphosphate to Geosmin. *Journal of the American Chemical Society*. 2006, 128(25):8128–8129 [32] J. Jiang, X. He, D. E. Cane. Biosynthesis of the Earthy Odorant Geosmin by a Bifunctional *Streptomyces coelicolor* Enzyme. *Nature chemical biology*. 2007, 3(11):711–715
- [33] S. Giglio, J. Jiang, C. P. S. Saint, et al. Isolation and Characterization of the Gene Associated with Geosmin Production in Cyanobacteria. *Environmental Science & Technology*. 2008, 42(21):8027–8032 [34] S. Giglio, C. P. Saint, P. T. Monis. Expression of the geosmin synthase Gene in the Cyanobacterium *Anabaena circinalis* Awqc318. *Journal of Phycology*. 2011, 47(6):1338–1343
- [35] E. A. Morales. Observations of the Morphology of some Known and New Fragilaroid Diatoms (bacillariophyceae) from Rivers in the Usa. *Phycological Research*. 2005, 53(2):113–133
- [36] S. Beer, W. Spencer, G. Bowes. Photosynthesis and Growth of the Filamentous Blue-green-alga *Lyngbya-birgei* in Relation to its Environment. *Journal of Aquatic Plant Management*. 1986, 24:61–65
- [37] J. N. Haas. Neorhabdocoela oocytes - Palaeoecological Indicators Found in Pollen

- Preparations from Holocene Freshwater Lake Sediments. Review of Palaeobotany and Palynology. 1996, 91(1–4):371–382 [38] R. K. Colwell. Biodiversity: Concepts, Patterns, and Measurement. The Princeton Guide to Ecology. 2009:257–63
- [39] C. E. Shannon, W. Weaver, R. E. Blahut, et al. The Mathematical Theory of Communication. vol. 117. University of Illinois press Urbana, 1949
- [40] J.-T. Wu, F. Jüttner. Differential Partitioning of Geosmin and 2 -methylisoborneol between Cellular Constituents in *Oscillatoria tenuis*. Archives of Microbiology. 1988, 150:580–583
- [41] T. Zhang, L. Li, L. Song, et al. Effects of Temperature and Light on the Growth and Geosmin Production of *Lyngbya kuetzingii* (cyanophyta). Journal of Applied Phycology. 2009, 21:279–285 [42] M. Orsini, V. Romano-Spica. A Microwave-based Method for Nucleic Acid Isolation from Environmental Samples. Letters in Applied Microbiology. 2001, 33(1):17–20
- [43] J. Rasmussen, P. Barbez, L. Burgoyne, et al. Rapid Preparation of Cyanobacterial Dna for Real-time Pcr Analysis. Letters in Applied Microbiology. 2008, 46(1):14–19
- [44] J. Behets, P. Declerck, Y. Delaedt, et al. A Duplex Real-time Pcr Assay for the Quantitative Detection of *Naegleria fowleri* in Water Samples. Water Research. 2007, 41(1):118– 126
- [45] M. Su, V. Gaget, S. Giglio, et al. Establishment of Quantitative Pcr Methods for the Quantification of Geosmin-producing Potential and Anabaena Sp. in Freshwater Systems. Water Research. 2013, 47(10):3444–3454 [46] S. W. Duncan, D. W. Blinn. Importance of Physical Variables on the Seasonal Dynamics of Epilithic Algae in a Highly Shaded Canyon Stream. Journal of Phycology. 1989, 25(3):455–461
- [47] J. Padisák, É. Soróczki-Pintér, Z. Rezner. Sinking Properties of some Phytoplankton Shapes and the Relation of Form Resistance to Morphological Diversity of Plankton - an Experimental Study. Hydrobiologia. 2003, 500:243–257 [48] L. Naselli-Flores, J. Padisák, M. Albay. Shape and Size in Phytoplankton Ecology: Do They Matter? Hydrobiologia. 2007, 578:157–161
- [49] E. Benincà, J. Huisman, R. Heerkloss, et al. Chaos in a Long-term Experiment with a Plankton Community. Nature. 2008, 451(7180):822–825
- [50] G. Weithoff. The Concepts of ‘plant Functional Types’ and ‘functional Diversity’ in Lake Phytoplankton - a New Understanding of Phytoplankton Ecology? Freshwater Biology. 2003, 48(9):1669–1675

- [51] A. Matthiensen, K. Beattie, J. Yunes, et al. Microcystin-Ir, from the Cyanobacterium *Microcystis* Rst 9501 and from a *Microcystis* Bloom in the Patos Lagoon Estuary, Brazil. *Phytochemistry*. 2000, 55(5):383–387 [52] M. Bruno, D. A. Barbini, E. Pierdominici, et al. Anatoxin-a and a Previously Unknown Toxin in *Anabaena plantonica* from Blooms Found in Lake Mulargia (italy). *Toxicon*. 1994, 32(3):369–373
- [53] P. Pereira, H. Onodera, D. Andrinolo, et al. Paralytic Shellfish Toxins in the Freshwater Cyanobacterium *Aphanizomenon Flos-aquae*, Isolated from Montargil Reservoir, Portugal. *Toxicon*. 2000, 38(12):1689–1702 [54] J. E. Eriksson, J. A. O. Meriliuoto, T. Lindholm. Accumulation of a Peptide Toxin from the Cyanobacterium *Oscillatoria Agardhii* in the Freshwater Mussel *Anadonta cygnea*. *Hydrobiologia*. 1989, 183:211–216
- [55] T. Willén, R. Mattsson. Water-blooming and Toxin-producing Cyanobacteria in Swedish Fresh and Brackish Waters, 1981–1995. *Hydrobiologia*. 1997, 353:181–192
- [56] M. D. Ferrier, B. R. B. Sr., D. E. Terlizzi, et al. The Effects of Barley Straw (*Hordeum Vulgare*) on the Growth of Freshwater Algae. *Bioresource Technology*. 2005, 96(16):1788–1795 [57] S. Saito, A. Hirono. Rapid-sand-filter Clogging by Diatoms: *Synedra Acus* and *Synedra Ulna*. *Water and Waste*. 1980, 22
- [58] M. Juanico, Y. Azov, B. Teltsch, et al. Effect of Effluent Addition to a Freshwater Reservoir on the Filter Clogging Capacity of Irrigation Water. *Water Research*. 1995, 29(7):1695–1702 [59] C. C. Davis. Evidence for the Eutrophication of Lake Erie from Phytoplankton Records. *Limnology and Oceanography*. 1964, 9(3):275–283
- [60] B. E. Cuker. Grazing and Nutrient Interactions in Controlling the Activity and Composition of the Epilithic Algal Community of an Arctic Lake. *Limnology and Oceanography*. 1983, 28(1):133–141
- [61] E. B. Örnólfssdóttir, S. E. Lumsden, J. L. Pinckney. Nutrient Pulsing as a Regulator of Phytoplankton Abundance and Community Composition in Galveston Bay, Texas. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 2004, 303(2):197–220 [62] J. A. Elliott, I. D. Jones, S. J. Thackeray. Testing the Sensitivity of Phytoplankton Communities to Changes in Water Temperature and Nutrient Load, in a Temperate Lake. *Hydrobiologia*. 2006, 559:401–411
- [63] J. G. Kingsolver, R. B. Huey. Size, Temperature, and Fitness: Three Rules. *Evolutionary Ecology Research*. 2008, 10(2):251–268



- [64] L. Naselli-Flores, R. Barone. Steady-state Assemblages in a Mediterranean Hypertrophic Reservoir. the Role of *Microcystis* Ecomorphological Variability in Maintaining an Apparent Equilibrium. *Hydrobiologia*. 2003, 502:133–143 [65] L. Naselli-Flores, R. Barone. Water-level Fluctuations in Mediterranean Reservoirs: Setting a Dewatering Threshold as a Management Tool to Improve Water Quality. *Hydrobiologia*. 2005, 548(1):85–99
- [66] I. O'Farrell, P. Tezanos Pinto, I. Izaguirre. Phytoplankton Morphological Response to the Underwater Light Conditions in a Vegetated Wetland. *Hydrobiologia*. 2007, 578:65–77
- [67] L. Naselli-Flores, R. Barone. Pluriannual Morphological Variability of Phytoplankton in a Highly Productive Mediterranean Reservoir (lake Arancio, Southwestern Sicily). *Hydrobiologia*. 2007, 578:87–95 [68] J. A. Raven. A Cost-benefit Analysis of Photon Absorption by Photosynthetic Unicells. *New Phytologist*. 1984, 98(4):593–625
- [69] K. J. Flynn. A Mechanistic Model for Describing Dynamic Multi-nutrient, Light, Temperature Interactions in Phytoplankton. *Journal of Plankton Research*. 2001, 23(9):977–997 [70] W. J. Paschak, J. Gavis. Transport Limitation of Nutrient Uptake in Phytoplankton. *Limnology and Oceanography*. 1974:881–888
- [71] B. J. Shuter. Size Dependence of Phosphorus and Nitrogen Subsistence Quotas in Unicellular Microorganisms. *Limnology and Oceanography*. 1978:1248–1255 [72] D. L. Aksnes, J. K. Egge. A Theoretical Model for Nutrient Uptake in Phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*. 1991, 70(1):65–72
- [73] M. Hein, M. F. Pedersen, K. Sand-Jensen. Size-dependent Nitrogen Uptake in Micro-and Macroalgae. *Marine ecology progress series*. 1995, 118(1):247–253
- [74] B. W. Frost. Effects of Size and Concentration of Food Particles on the Feeding Behavior of the Marine Planktonic Copepod *Calanus pacificus*. *Limnology and Oceanography*. 1972:805–815 [75] T. Kiørboe. Turbulence, Phytoplankton Cell Size, and the Structure of Pelagic Food Webs. *Advances in Marine Biology*. 1993, 29:1–72
- [76] A. Waite, A. Fisher, P. A. Thompson, et al. Sinking Rate Versus Cell Volume Relationships Illuminate Sinking Rate Control Mechanisms in Marine Diatoms. *Marine Ecology Progress Series*. 1997, 157:97–108 [77] W. M. Lewis. Surface/volume Ratio: Implications for Phytoplankton Morphology. *Science*. 1976, 192(4242):885–887

2

- [78] J. M. Palmer. Radiometry and Photometry: Units and Conversions. *Handbook of Optics*. 2000,
- [79] J. Cai, W. Li, N. Liu, et al. Investigation and Analysis of Pollution Sources in Yanghe Reservoir. *China Rural Water and Hydropower* (in Chinese). 2006, 9:51–56
- [80] H. M. Woolf. On the Computation of Solar Elevation Angles and the Determination of Sunrise and Sunset Times. *National Aeronautics and Space Administration*, 1968 [81] I. Reda, A. Andreas. Solar Position Algorithm for Solar Radiation Applications. *Solar Energy*. 2004, 76(5):577–589
- [82] J. Bruggeman, S. A. L. M. Kooijman. A Biodiversity-inspired Approach to Aquatic Ecosystem Modeling. *Limnology and oceanography*. 2007, 52(4):1533–1544 [83] G. P. Smestad. Education and Solar Conversion:: Demonstrating Electron Transfer. *Solar Energy Materials and Solar Cells*. 1998, 55(1–2):157–178
- [84] A. R. Klemer, J. J. Cullen, M. T. Mageau, et al. Cyanobacterial Buoyancy Regulation: The Paradoxical Roles of Carbon. *Journal of Phycology*. 1996, 32(1):47–53 [85] S. Taguchi. Relationship between Photosynthesis and Cell Size of Marine Diatoms. *Journal of Phycology*. 1976, 12(2):185–189
- [86] C. S. Reynolds. *Ecology of Phytoplankton*. Cambridge: Cambridge University Press, 2006 [87] B. Boehrer, M. Schultze. Stratification of Lakes. *Reviews of geophysics*. 2008, 46(2)
- [88] 杜桂森.北京密云水库水质研究.首都师范大学学报(自然科学版). 1991, 12(04):82 – 85
- [89] 杜桂森,孟李,张王武.密云水库水质现状及发展趋势.环境科学. 1999, 02:110 – 112
- [90] 李慧敏,孟凡艳,杜桂森等.密云水库东西库区的水质与浮游藻类分析.湖泊科学. 2007, 19(02):146 – 150
- [91] 夏军,李璐,严茂超等.气候变化对密云水库水资源的影响及其适应性管理对策.气候变化研究进展. 2008, 04(06):319 – 323
- [92] F. Yuan, Z.-H. Xie, Q. Liu, et al. Simulating Hydrologic Changes with Climate Change Scenarios in the Haihe River Basin. *Pedosphere*. 2005, 15(5):595–600
- [93] J. Xia, L. Zhang, C. Liu, et al. Towards Better Water Security in North China. E. Craswell, M. Bonnell, D. Bossio, et al.,(Editors) *Integrated Assessment of Water Resources and Global Change*, Springer Netherlands, 2007. 233 – 247 [94] 谭啸,孔繁翔,于洋等.升温过程对藻类复苏和群落演替的影响.中国环境科学. 2009, 29(06):578 – 582
- [95] 崔莉凤,黄振芳,刘载文等.水华爆发叶绿素- α 与表征指标溶解氧和 pH 的关系.给水排水.

2008, 34(z2):177 – 178 [96] 刘春光,金相灿,孙凌等. Ph 值对淡水藻类生长和种类变化的影响.农业环境科学学报. 2005, 24(2):294 – 298

[97] 康丽娟,潘晓洁,常锋毅等.碱度增加对蛋白核小球藻光合活性与胞外多糖的影响.湖泊科学. 2008, 20(2):251 – 256

[98] J. Melack. Photosynthetic Activity of Phytoplankton in Tropical African Soda Lakes. W. Williams,(Editor) Salt Lakes, Springer Netherlands, 1981, vol. 5 of Developments in Hydrobiology.

71–85 [99] R. Jones, G. F. Lee. Recent Advances in Assessing Impact of Phosphorus Loads on Eutrophication-related Water Quality. Water Research. 1982, 16(5):503–515

[100] 张路,范成新,王建军等.长江中下游湖泊沉积物氮磷形态与释放风险关系.湖泊科学. 2008, 20(03):263 – 270

[101] D. Schindler, R. Hecky. Eutrophication: More Nitrogen Data Needed. Science. 2009, 324:721–722

[102] D. J. Conley, H. W. Paerl, R. W. Howarth, et al. Controlling Eutrophication: Nitrogen and Phosphorus. Science. 2009, 323(5917):1014–1015

[103] M. Katsiapi, M. Moustaka-Gouni, E. Michaloudi, et al. Phytoplankton and Water Quality in a Mediterranean Drinking-water Reservoir (marathonas Reservoir, Greece). Environmental Monitoring and Assessment. 2011, 181:563–575 [104] G. A. Codd. Cyanobacterial Toxins, the Perception of Water Quality, and the Prioritisation of Eutrophication Control. Ecological Engineering. 2000, 16(1):51–60

[105] K. Simek, M. Comerma, J.-C. García, et al. The Effect of River Water Circulation on the Distribution and Functioning of Reservoir Microbial Communities as Determined by a Relative Distance Approach. Ecosystems. 2011, 14:1–14 [106] D. Zhao, Y. Cai, H. Jiang, et al. Estimation of Water Clarity in Taihu Lake and Surrounding Rivers Using Landsat Imagery. Advances in Water Resources. 2011, 34(2):165–173

[107] J. L. Graham, K. A. Loftin, M. T. Meyer, et al. Cyanotoxin Mixtures and Taste-and-odor Compounds in Cyanobacterial Blooms from the Midwestern United States. Environmental Science & Technology. 2010, 44(19):7361–7368

[108] A. Zamyadi, L. Ho, G. Newcombe, et al. Fate of Toxic Cyanobacterial Cells and Disinfection By-products Formation after Chlorination. Water Research. 2012, 46(5):1524–1535

[109] L. Naselli-Flores. Mediterranean Climate and Eutrophication of Reservoirs: Limnological



Skills to Improve Management. A. A. Ansari, S. Singh Gill, G. R. Lanza, et al.,(Editors) Eutrophication: causes, consequences and control, Springer Netherlands, 2011. 131–142 [110] H. W. Paerl, H. Xu, M. J. McCarthy, et al. Controlling Harmful Cyanobacterial Blooms in a Hyper-eutrophic Lake (lake Taihu, China): The Need for a Dual Nutrient (n & P) Management Strategy. Water Research. 2011, 45(5):1973 – 1983

[111] J. O'Neil, T. Davis, M. Burford, et al. The Rise of Harmful Cyanobacteria Blooms: The Potential Roles of Eutrophication and Climate Change. Harmful Algae. 2012, 14(0):313–334

[112] J. Yu, M. Yang, T.-F. Lin, et al. Effects of Surface Characteristics of Activated Carbon on the Adsorption of 2-methylisoborneol (mib) and Geosmin from Natural Water. Separation and Purification Technology. 2007, 56(3):363–370 [113] 郑和辉,钱城,邵兵等.北京密云水库富营养化和微囊藻毒素污染水平初步调查分析.卫生研究. 2007, 36:01

[114] G. Izaguirre, C. J. Hwang, S. W. Krasner, et al. Geosmin and 2-methylisoborneol from Cyanobacteria in Three Water Supply Systems. Applied and Environmental Microbiology. 1982, 43(3):708–714 [115] G. Izaguirre, W. Taylor. Geosmin and 2-methylisoborneol Production in a Major Aqueduct System. Water Science and Technology. 1995, 31(11):41–48

[116] G. Izaguirre, A.-D. Jungblut, B. A. Neilan. Benthic Cyanobacteria (*Oscillatoriaceae*) That Produce Microcystin-lr, Isolated from Four Reservoirs in Southern California. Water Research. 2007, 41(2):492–498 [117] N. Sugiura, N. Iwami, Y. Inamori, et al. Significance of Attached Cyanobacteria Relevant to the Occurrence of Musty Odor in Lake Kasumigaura. Water Research. 1998, 32(12):3549–3554

[118] Z. Li, P. Hobson, W. An, et al. Earthy Odor Compounds Production and Loss in Three Cyanobacterial Cultures. Water Research. 2012, 46(16):5165–5173 [119] Y. Tsuchiya, A. Matsumoto. Identification of Volatile Metabolites Produced by Blue-green Algae. Water Science & Technology. 1988, 20(8–9):149–155

[120] G. Izaguirre, W. Taylor, J. Pasek. Off -flavor Problems in Two Reservoirs, Associated with Planktonic *Pseudanabaena* Species. Water Science and Technology. 1999, 40(6):85–90

[121] H.-D. Park, C. Iwami, M. F. Watanabe, et al. Temporal Variabilities of the Concentrations of Intra- and Extracellular Microcystin and Toxic *Microcystis* Species in a Hypertrophic Lake, Lake Suwa, Japan (1991–1994). Environmental Toxicology and Water Quality. 1998, 13(1):61–72 [122] D. Tillett, E.

- Dittmann, M. Erhard, et al. Structural Organization of Microcystin Biosynthesis in *Microcystis aeruginosa* Pcc7806: An Integrated Peptide-polyketide Synthetase System. *Chemistry & Biology*. 2000, 7(10):753–764
- [123] H.-M. Oh, S. J. Lee, M.-H. Jang, et al. Microcystin Production by *Microcystis aeruginosa* in a Phosphorus-limited Chemostat. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000, 66(1):176–179
- [124] K. Sivonen, M. Namikoshi, W. R. Evans, et al. Isolation and Characterization of a Variety of Microcystins from Seven Strains of the Cyanobacterial Genus *Anabaena*. *Applied and Environmental Microbiology*. 1992, 58(8):2495–2500 [125] J. Rapala, K. Sivonen, C. Lyra, et al. Variation of Microcystins, Cyanobacterial Hepatotoxins, in *Anabaena* spp. as a Function of Growth Stimuli. *Applied and Environmental Microbiology*. 1997, 63(6):2206–12
- [126] G. Christiansen, J. Fastner, M. Erhard, et al. Microcystin Biosynthesis in *Planktothrix*: Genes, Evolution, and Manipulation. *Journal of Bacteriology*. 2003, 185(2):564–572
- [127] S. W. Wilhelm, S. E. Farnsley, G. R. LeCleir, et al. The Relationships between Nutrients, Cyanobacterial Toxins and the Microbial Community in Taihu (lake Tai), China. *Harmful Algae*. 2011, 10(2):207–215 [128] S. Acuña, D. Baxa, S. Teh. Sublethal Dietary Effects of Microcystin Producing *Microcystis* on Threadfin Shad, *Dorosoma petenense*. *Toxicon*. 2012, 60(6):1191–1202
- [129] M. Sabart, D. Pobel, E. Briand, et al. Spatiotemporal Variations in Microcystin Concentrations and in the Proportions of Microcystin-producing Cells in Several *Microcystis aeruginosa* Populations. *Applied and Environmental Microbiology*. July 15, 2010, 76(14):4750–4759 [130] A. E. Walsby. The Permeability of Blue-green Algal Gas-vacuole Membranes to Gas. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*. 1969, 173(1031):235–255
- [131] A. Walsby, M. Booker. Changes in Buoyancy of a Planktonic Blue-green Alga in Response to Light Intensity. *British Phycological Journal*. 1980, 15(4):311–319
- [132] C. S. Reynolds, R. L. Oliver, A. E. Walsby. Cyanobacterial Dominance: The Role of Buoyancy Regulation in Dynamic Lake Environments. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*. 1987, 21(3):379–390 [133] Y. Xiao, N. Gan, J. Liu, et al. Heterogeneity of Buoyancy in Response to Light between Two Buoyant Types of Cyanobacterium *Microcystis*. *Hydrobiologia*. 2012, 679:297–311
- [134] D. J. McQueen, D. R. S. Lean. Influence of Water Temperature and Nitrogen to Phosphorus

- Ratios on the Dominance of Blue-green Algae in Lake St. George, Ontario. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 1987, 44(3):598–604 [135] R. D. Robarts, T. Zohary. Temperature Effects on Photosynthetic Capacity, Respiration, and Growth Rates of Bloom-forming Cyanobacteria. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research. 1987, 21(3):391–399
- [136] M. Šolić, N. Krstulović. Separate and Combined Effects of Solar Radiation, Temperature, Salinity, and Ph on the Survival of Faecal Coliforms in Seawater. Marine Pollution Bulletin. 1992, 24(8):411–416 [137] J. M. Jacoby, D. C. Collier, E. B. Welch, et al. Environmental Factors Associated with a Toxic Bloom of *Microcystis aeruginosa*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 2000, 57(1):231–240 [138] X. Liu, X. Lu, Y. Chen. The Effects of Temperature and Nutrient Ratios on *Microcystis* Blooms in Lake Taihu, China: An 11-year Investigation. Harmful Algae. 2011, 10(3):337–343
- [139] C. Nalewajko, T. P. Murphy. Effects of Temperature, and Availability of Nitrogen and Phosphorus on the Abundance of *Anabaena* and *Microcystis* in Lake Biwa, Japan: An Experimental Approach. Limnology. 2001, 2:45–48 [140] A. Ståhl-Delbanco, L.-A. Hansson, M. Gyllström. Recruitment of Resting Stages may Induce Blooms of *Microcystis* at Low N:p Ratios. Journal of Plankton Research. 2003, 25(9):1099–1106
- [141] V. S. Brauer, M. Stomp, J. Huisman. The Nutrient-ligad Hypothesis: Patterns of Resource Limitation and Community Structure Driven by Competition for Nutrients and Light. The American Naturalist. 2012, 179(6):721–740 [142] D. Findlay, S. Kasian. Response of a Phytoplankton Community to Controlled Partial Recovery from Experimental Acidification. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 1991, 48(6):1022–1029
- [143] P. Brettum. Changes in the Volume and Composition of Phytoplankton after Experimental Acidification of a Humic Lake. Environment International. 1996, 22(5):619–628
- [144] Aoyama K, Kawamura N, Saitoh M, et al. Interactions between Bacteria-Free *Anabaena*-Macrospora Clone and Bacteria Isolated from Unialgal Culture [J] Water Science and Technology, 1995, 31 (11):121-6.
- [145] Lupton F S, Marshall K C. Specific Adhesion of Bacteria to Heterocysts of *Anabaena* spp. and Its Ecological Significance [J] Applied and Environmental Microbiology, 1981, 42 (6):1085-92.
- [146] Gorham P, McLachlan J, Hammer U, et al. Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena*

- flos-aquae(Lyngb.) De bréb [J] Verh Int Verein Limnol, 1964, 15 (8):796-804.
- [147]Zimmerman W J, Soliman C M, Rosen B H. Growth and 2-Methylisoborneol Production by the Cyanobacterium Phormidium Lm689 [J] Water Science and Technology, 1995, 31 (11):181-6.
- [148]Robert R. L. Guillard C J L. Yellow-green algae with chlorophyllide C [J] Journal of Phycology, 1972, 8 (1):10-4.
- [149]Wintermans J, de Mots A. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol [J] Biochimica et Biophysica Acta , 1965, 109 (2):448-53.
- [150]Ershov Y, Gantt R R, Cunningham F X, et al. Isopentenyl diphosphate isomerase deficiency in Synechocystisspp. strain PCC6803 [J] FEBS Letters, 2000, 473 (3):337-40.
- [151]Izaguirre G, Wolfe R, Means E. Degradation of 2-Methylisoborneol by Aquatic Bacteria [J] Applied and Environmental Microbiology, 1988, 54 (10):2424-31.
- [152]Oikawa E, Shimizu A, Ishibashi Y. 2-Methylisoborneol Degradation by the CAM Operon from Pseudomonas Putida PpGi [J] Water Science and Technology, 1995, 31 (11):79-86.
- [153]Saadoun I. Production of 2-methylisoborneol by Streptomyces violaceusniger and its transformation by selected species of Pseudomonas [J] Journal of Basic Microbiology, 2005, 45 (3):236-42.
- [154]Ho L, Hoefel D, Saint C P, et al. Isolation and identification of a novel microcystin-degrading bacterium from a biological sand filter [J] Water Research, 2007, 41 (20):4685-95.
- [155]Kirk John T. Light and photosynthesis in aquatic ecosystem [M] Cambridge: Cambridge University Press. 1983.
- [156]Richard A. Bafford R W S, Si-Yin Chung, David F. Millie., Intracellular localization of the taste/odor metabolite 2-methylisoborneol in Oscillatoria limosa (cyanophyta) [J] Journal of Phycology, 1993, 29 (1):91-5.

三、国内外学术合作交流与人才培养情况

国内外学术交流:

通过请进来和走出去的方式加速人才培养，效果显著。项目执行期间，邀请台湾成功大学林财富教授、澳大利亚 Michael Burch 教授、Peter 教授、Virginie 博士，Rob

Daly 博士，挪威的 Rolf D. Vogt 教授、比利时根特大学 Verstraete 教授等多个国家的优秀科学家来中心进行学术交流和指导工作。组织 2 次与本项目相关的国际学术会议，分别为 2010 年于江苏吴江组织的第一届 IWA 嗅味研讨会和 2011 年于山东济南组织的第二届 IWA 嗅味研讨会，国内外专家学者共 270 人参加该研讨会。2 次研讨会主要面向内地供水行业，包括嗅味问题和控制技术研讨以及嗅味感官分析技术培训两部分，来自全国各地供水企业、水质监测部门的代表近 180 人参加了研讨会。来自美国、加拿大、英国、澳大利亚、中国台湾以及内地嗅味问题知名专家，针对嗅味的产生机制、评价方法以及控制技术进行了深入的研讨。同时，IWA 嗅味专业委员会的 Andrea Dietrich、Gary Burlingame、Djanette Khiari、林财富教授及我中心于建伟博士，对与会者进行了嗅味感官评价的技术培训，并帮助广大技术人员解答了许多在日常工作中遇到的嗅味难题。

另外，课题组前后派出 17 人次参加国内外学术交流活动，有力促进了人才培养和成果产出。同时本人作为 IWA（国际水协）大会程序委员会成员活跃于国际学术界，2 次应邀参加 IWA 国际会议并做大会特邀报告。通过这些国际学术交流活动，在推动项目顺利完成的同时，也提高了组内师生的学术视野。

人才培养：

2010-2013 年，通过本项目的开展，培养博士生 3 人，硕士生 7 人。现将毕业生情况做一简介：

1. 研究生姓名： 苏命

学历： 博士

研究方向： 水处理原理与技术

论文题目： 水源型水库中藻类种群动态变化规律及驱动机制

导师姓名： 杨敏

已于 2010 年 5 月答辩。

2. 研究生姓名： 孙道林

学历： 博士

研究方向： 水处理原理与技术

论文题目： 饮用水嗅味评价与致嗅物质识别研究

导师姓名： 杨敏



已于2010年5月答辩。

3. 研究生姓名： 张晓晴

学历： 博士

研究方向： 生态学

论文题目： 基于元胞自动机和数据驱动的湖库水华预测

导师姓名： 陈求稳

已于2014年5月答辩。

4. 研究生姓名： 赵云云

学历： 硕士

研究方向： 水处理原理与技术

论文题目： 藻源腥味物质的识别及产生规律研究

导师姓名： 杨敏

已于2010年5月答辩。

5. 研究生姓名： 苏春凤

学历： 硕士

研究方向： 水处理原理与技术

论文题目： 磷对铜绿微囊藻生长和产毒的影响

导师姓名： 刘会娟

已于2013年5月答辩。

6. 研究生姓名： 郭静

学历： 硕士

研究方向： 水处理原理与技术

论文题目： 基于实码遗传算法的湖泊水质模型 SALMO 参数优化研究

导师姓名： 陈求稳

已于2012年5月答辩。

7. 研究生姓名： 张成成

学历： 硕士

研究方向： 生态学

论文题目：太湖三维生态水动力耦合模型和应用

导师姓名：陈求稳

已于2014年5月答辩。

8. 研究生姓名：刘聪

学历：硕士

研究方向：生态学

论文题目：洋河水库鱼腥藻产异味特征及控制对策研究

导师姓名：周北海、储昭升

已于2010年12月答辩。

9. 研究生姓名：孔祥云

学历：硕士

研究方向：生态学

论文题目：鱼腥藻在水体中的迁移特征及影响因素研究

导师姓名：周北海、储昭升

已于2011年12月答辩。

10. 研究生姓名：李芸

学历：硕士

研究方向：生态学

论文题目：低频低强度超声波控藻效果研究

导师姓名：吴祥云

已于2012年1月答辩。

四、存在的问题、建议及其他需要说明的情况

无

五、获奖情况

1. 中国科学院先进工作者，2010.

2. 新世纪百千万人才工程国家级人选，2010

3. Project Innovation Award, International Water Association, 2010

六、代表性论著

4年来以本项目署名发表的研究论文共 26 篇，其中 SCI 收录论文 16 篇，EI 收录 10 篇。代表性成果如下：

1. Zonglai Li, Jianwei Yu, **Min Yang***, Jing Zhang, Michael D. Burch, Wei Han. Cyanobacterial population and harmful metabolites dynamics during a bloom in Yanghe Reservoir, North China, *Harmful Algae*, 2010, (9) :481-488.
2. Zonglai Li , Peter Hobson , Wei An , Michael D. Burch , Jenny House , **Min Yang** *. Earthy odor compounds production and loss in three cyanobacterial cultures. *Water Research* , 2012(46):5165-5173.
3. Ming Su, Virginie Gaget, Steven Giglio, Michael Burch, Wei An, **Min Yang** *. Establishment of quantitative PCR methods for the quantification of geosmin-producing potential and Anabaena sp. in freshwater systems. *Water Research* , 2013(47):3444-3454
4. Ming Su, Wei An, Jianwei Yu, Shenling Pan, **Min Yang** *. Importance of underwater light field in selecting phytoplankton morphology in a eutrophic reservoir. *Hydrobiologia*, 2014 724:203–216.
5. Qiuwen Chen*, Chengcheng Zhang, Friedrich Recknagel, Jing Guo, Koen Blanckaert. Adaptation and multiple parameter optimization of the simulation model SALMO as prerequisite for scenario analysis on a shallow eutrophic Lake. *Ecological Modelling* 2014,273 109-116.
6. Haifeng Zhang , Yahe Zhang , Quan Shi , Shuoyi Ren , Jianwei Yu , Feng Ji , Wenbin Luo , **Min Yang** *.Characterization of low molecular weight dissolved natural organic matter along the treatment trait of a waterworks using Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Water Research* .2012,46(16): 5197-5204.



附表1、基金项目研究成果目录

- 1、Zonglai Li、Jianwei Yu、*Min Yang、Jing Zhang、Michael D. Burch、Wei Han , Cyanobacterial population and harmful metabolites dynamics during a bloom in Yanghe Reservoir, North China , HARMFUL ALGAE, 9(5), pp 481–488, 2010/6, (影响因子=2. 901(2012)), 引用次数=2) , SCI , 已标注 期刊论文
- 2、Zonglai Li、Peter Hobson、Wei An、Michael D. Burch、Jenny House、*Min Yang , Earthy odor compounds production and loss in three cyanobacterial cultures , Water Research, 46(15), pp 5165–5173, 2012/10/15, (影响因子=4. 655(2012)) , SCI , 已标注 期刊论文
- 3、Ming Su、Virginie Gaget、Steven Giglio、Michael Burch、Wei An、*Min Yang , Establishment of quantitative PCR methods for the quantification of geosmin-producing potential and Anabaena sp in freshwater systems , WATER RESEARCH, 47(10), pp 3444–3454, 2013/6/15, (影响因子=4. 655(2012)) , SCI , 已标注 期刊论文
- 4、Ming Su、Wei An、Jianwei Yu、Shenling Pan、*Min Yang , Importance of underwater light field in selecting phytoplankton morphology in a eutrophic reservoir , Hydrobiologia, Vol 724, pp 203–216, 2013/11/6, (影响因子=1. 985(2012)) , SCI , 已标注 期刊论文
- 5、Qiuwen Chen、Chengcheng Zhang、Friedrich Recknagel、Jing Guo、Koen Blanckaert , Adaptation and multiple parameter optimization of the simulation model SALMO as prerequisite for scenario analysis on a shallow eutrophic Lake , Ecological Modelling, Vol 273, pp 109–116, 2014/2/10, (影响因子=2. 069(2012)) , SCI , 已标注 期刊论文
- 6、Haifeng Zhang、Yahe Zhang、Quan Shi、Shuoyi Ren、Jianwei Yu、Feng Ji、Wenbin Luo、*Min Yang , Characterization of low molecular weight dissolved natural organic matter along the treatment trait of a waterworks using Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry , Water Research, 46(16), pp 5197–5204, 2012/9/15, (影响因子=4. 655(2012)) , SCI , 已标注 期刊论文
- 7、Ming Su、Jianwei Yu、Shenlin Pan、Wei An、*Min Yang , Spatial and temporal variations of two cyanobacteria in the mesotrophic Miyun reservoir , Journal of Environmental Sciences , SCI , 已标注 期刊论文
- 8、Zhang, Haifeng、Zhang, Yahe、Shi, Quan、Hu, Jianying、Chu, Mengqiao、Yu, Jianwei、*Yang, Min , Study on Transformation of Natural Organic Matter in Source Water during Chlorination and Its Chlorinated Products using Ultrahigh Resolution Mass Spectrometry , Environmental Science and Technology, 46(8), pp 4396–4402, 2012/4/17 , SCI , 已标注 期刊论文
- 9、Min Ma、Ruiping Liu、Huijuan Liu、*Jiuhui Qu , Effect of moderate pre-oxidation on the removal of Microcystis aeruginosa by KMnO₄-Fe(II) process: Significance of the in-situ formed Fe(III) , Water Research, Vol 46, pp 73–81, 2012, (影响因子=4. 655(2012)) , SCI , 已标注 期刊论文



- 10、Min Ma、Ruiping Liu、Huijuan Liu、*jiuhui Qu、William Jefferson , Effects and mechanisms of pre-chlorination on *Microcystis aeruginosa* removal by alum coagulation: Signifcance of the released intracellular organic matter , Separation and Purifcation Technology, Vol 86, pp 19–25, 2012 , SCI , 已标注
期刊论文
- 11、Jianwei Yu、*Wei AN、Min Yang、Junnong Gu、Nan Cao、Youjun Chen , Quick response to 2-MIB episodes based on native population odor sensitivity evaluation , Clean: Air, Soil, Water, Vol 41, pp 1–6, 2013, (影响因子=2.046(2012)) , SCI , 已标注
期刊论文
- 12、Yongjing Wang、Jianwei Yu、Po Han、Jing Sha、Tao Li、Wei An、Juan Liu、*Min Yang , Advanced oxidation of bromide-containing drinking water: a balance between bromated and trihalomethane formation controls , Journal of Environmental Sciences, Vol 25, pp 2169–2176, 2013 , SCI , 已标注
期刊论文
- 13、Yunyun Zhao、*Jianwei Yu、Ming Su、Wei An、Min Yang , A fish odor episode in a north China reservoir: occurrence, origin, and possible odor causing compounds , Journal of Environmental Sciences, Vol 25, pp 1–6, 2013 , SCI , 已标注
期刊论文
- 14、Yongjing Wang、*Jianwei Yu、Dong Zhang、Min Yang , Addition of hydrogen peroxide for the simultaneous control of bromated and odor during advanced drinking water treatment using ozone , Journal of Environmental Sciences , SCI , 已标注
期刊论文
- 15、Jianwei Yu、*Wei An、Cao Nan、*Min Yang , Quantitative method to determine the regional drinking water odorant regulation goals based on odor sensitivity distribution: Illustrated using 2-MIB , Journal of Environmental Sciences , SCI , 已标注
期刊论文
- 16、Daolin Sun, Jianwei Yu*, Min Yang, Wei An, Yunyun , Occurrence of taste and odor in drinking water of major cities across China , Frontiers of environmental science and engineering, (影响因子=0.886(2012)) , SCI , 已标注
期刊论文
- 17、于建伟、陈克云、苏命、杨敏、刘代成 , 不同营养源条件下螺旋鱼腥藻生长与产嗅特征研究 , 环境科学, 32(8), pp 2254–2259, 2011 , EI , 已标注
期刊论文
- 18、刘娟, 于建伟*, 安伟, 魏魏, 杨敏 , 我国不同区域水源水拉森指数比较分析 , 环境工程学报, 7(7), pp 2471–2474, 2013 , EI , 已标注
期刊论文
- 19、代然、*储昭升、于秀娟、杨红君、金相灿 , 压力下伪空胞破裂对3种水华蓝藻生长及光合作用的影响 , 环境科学研究, Vol 25, pp 30–35, 2012 , EI , 已标注
期刊论文
- 20、*储昭升、张玉宝、金相灿、徐颖、杨红君 , 底泥对洋河水库微囊藻和鱼腥藻生长影响的研究 , 环境科学, Vol 33, pp 844–848, 2012 , EI , 已标注
期刊论文



- 21、李芸、*吴祥云、储昭升，洋河水库微囊藻空间分布特征及其影响因素分析，环境科学研究，Vol 25, pp 501-505, 2012
，EI，已标注 **期刊论文**
- 22、贾晓燕、刘聪、*储昭升、庞燕、胡小贞，氮磷限制条件下螺旋鱼腥藻产生土嗅素特征研究，中国环境科学，EI
，已标注 **期刊论文**
- 23、贾晓燕、*储昭升、刘聪、庞燕、胡小贞，不同光照强度对螺旋鱼腥藻产生土嗅素的影响，环境科学研究，EI，已标注
期刊论文
- 24、苏春风、代瑞华、*刘会娟、赵旭、曲久辉，不同磷源及浓度对铜绿微囊藻生长和产毒的影响，环境科学学报，Vol 33,
pp 1-6, 2013, EI, 已标注 **期刊论文**
- 25、*储昭升、代然、王宁、孔祥云，氮、磷限制条件下螺旋鱼腥藻伪空胞合成研究，环境科学研究，EI，已标注
期刊论文
- 26、代然、王宁、孔祥云、*储昭升，鱼腥藻伪空胞合成过程中浮力及迁移特征的研究，环境工程技术学报，EI，已标注
期刊论文



附表2、基金资助项目统计数据表（本表是针对各种性质基金项目收集数据以便进行整体资助效果分析使用，并非要求每个项目都具有以下各类成果，特别是成果推广栏目，主要针对重大项目或一些得到应用的项目，没有可空白不填。）

获奖 (项)	国家级						省部级				国际学术奖		其他		
	自然科学奖		科技进步奖		发明奖		自然科学奖		科技进步奖		1		2		
	一等	二等	一等	二等	一等	二等	一等	二等	一等	二等					
会议/论文/ 专著(篇)	会议报告			发表论文						专著					
	国际会议		全国性会议		发表论文数(已含录用)		四大检索系统收录情况				中文		外文		
	特邀报告	分组报告	特邀报告	分组报告	国际刊物	国内核心刊物	国内一般刊物	SCI	EI	ISTP	ISR	已出版	待出版	已出版	待出版
	2				16	10		16	10	0	0	9	1	13	3
专利及其他	专利(项)				成果推广及经济效益				其他成果						
	国内		国外		可推广项数	已推广项数	经济效益(万元)	软件/数据库	图表/图集	新仪器/新方法	鉴定及其他				
	申请	授权	申请	授权											
人才培养及 学术交流	人才培养(人)						举办学术会议次数及参加人数								
	博士后		博士		硕士		中青年学术带头人		国际		国内		出国参加国际学术会议人数		
	在站	出站	在读	毕业	在读	毕业	40岁以下	40-50岁	次数	人数	次数	人数	次数	人数	
			3			7			2	270	10	5	7	3	

注：此表统计数据必须与表2成果目录表和报告正文中的说明相一致。如有国际学术奖、软件、图集、组织国际会议等，具体内容须在报告正文中描述。

项目负责人签字及审核意见表

项目负责人承诺:

我所承担的项目（编号：50938007 名称：湖库型水源地蓝藻水华及其有害次生产物暴发机制）结题报告内容填写实事求是，数据详实。在今后的研究工作中，如有与本项目相关的成果，将标注“国家自然科学基金资助”，并报送国家自然基金委员会。

负责人（签章）：

日期：

项目依托单位科研管理部门审查意见:

经办人（签章）：

单位公章：

日期：

科学处审查意见:

完成情况 综合评分 (划√)	优	良	中	差

负责人（签章）：

日期：

科学部核准意见（对重点、重大、国家杰出青年科学基金项目）：

负责人（签章）：

日期：

评估组或委领导意见（主要对后期评估和重点、重大、国家杰出青年基金等特殊项目）：

组长或委领导（签章）：

日期：

附件列表

序号	附件类型	附件名称	备注
1	论著	期刊论文	
2	论著	期刊论文	
3	论著	期刊论文	
4	论著	期刊论文	
5	论著	期刊论文	
6	论著	期刊论文	
7	论著	期刊论文	
8	论著	期刊论文	
9	论著	期刊论文	
10	论著	期刊论文	
11	论著	期刊论文	
12	论著	期刊论文	
13	论著	期刊论文	
14	论著	期刊论文	
15	论著	期刊论文	
16	论著	期刊论文	
17	论著	期刊论文	
18	论著	期刊论文	
19	论著	期刊论文	
20	论著	期刊论文	
21	论著	期刊论文	
22	论著	期刊论文	
23	论著	期刊论文	
24	其他	学位论文封面	
25	其他	学位论文封面	
26	其他	学位论文封面	
27	其他	学位论文封面	
28	其他	学位论文封面	
29	其他	学位论文封面	
30	其他	学位论文封面	
31	其他	学位论文封面	
32	其他	学位论文封面	
33	其他	学位论文封面	
34	奖励	获奖	
35	奖励	获奖	



国家自然科学基金资助项目经费决算表

(金额单位:万元)

填报说明: 电子表格和书面材料所报送的决算情况必须保持一致。			
项目(课题)名称		湖库型水源地蓝藻水华及其有害次生产物暴发机制	
项目(课题)负责人		杨敏	批准号 50938007
已拨入经费(总额)		200.0000	
科 目	预算经费	经费支出	说明
一. 研究经费	154.0000	137.1731	
1. 科研业务费	64.0000	50.7182	
(1) 测试/计算/分析费	22.0000	9.4740	
(2) 能源动力费	12.0000	10.8000	
(3) 会议费/差旅费	28.0000	26.6618	
(4) 出版物/文献/信息传播事务费	2.0000	3.7824	
(5) 其他	0	0	
2. 实验室材料费	52.0000	55.5099	
(1) 原材料/试剂/药品购置费	52.0000	55.5099	
(2) 其他	0	0	
3. 仪器设备费	24.0000	23.4910	
(1) 购置	24.0000	23.4910	
(2) 试制	0	0	
4. 实验室改装费	14.0000	7.4540	
5. 协作费	0	0	
二. 国际合作与交流费	16.0000	10.1272	
1. 出境国际旅费	10.0000	7.5347	
2. 境外合作人员来华生活费	6.0000	2.5925	
3. 在华举办学术会议费	0	0	
4. 其他	0	0	
三. 劳务费	20.0000	19.9755	直接参加项目研究的研究生、博士后人员的劳务费用
四. 管理费	10.0000	10.0000	不得超过预算经费的5%
合 计	200.0000	177.2758	
已拨入经费结余	22.7242		
本项目其他经费来源	预算经费	经费支出	
国家其他计划资助经费	0	0	
其他经费资助(含部门匹配)	0	0	
其他经费来源合计	0	0	

项目负责人(签章) :

科研管理部门负责人(签章) :

财务负责人(签章) :

年 月 日

年 月 日

年 月 日

附：经费使用说明表

填报说明：

- a) 项目（课题）负责人需要对经费使用情况作一般说明；
- b) 当预算经费与拨入经费不相等时，需要特别说明；
- c) 当经费支出金额与经费预算金额相差较大时，需要着重说明。

课题专项经费资金拨入的总额为200万元，实际拨付金额与课题经费预算金额一致。经费已全部到位，共分两次次拨入，其中2009年10月26日，拨款金额120.00万元；2011年7月6日，拨款金额80万元。按照预算，200万元课题经费中，科研业务费共64.00万元，其中测试/计算/分析费22.00万元，能源动力费12万元，会议费/差旅费28.00万元，出版物/文献/信息传播事务费2.00万元；实验材料费共52.00万元；仪器设备费24.00万元；国际合作与交流费16.00万元；劳务费20.00万元；管理费10.00万元。

课题实施过程中实际支出经费基本按照预算使用，已支出费用177.28万元，详见附表，不存在预算调整情况，具体支出情况及说明如下：

1. 研究经费

研究经费预算154.00万元，实际支出137.17万元，具体支出如下：

(1) 科研业务费

预算64.00万元，实际经费支出50.72万元。主要用于课题研究中使用分析测试、采样差旅、论文发表以及能源动力等相关费用，具体包括分析测试费9.47万元，能源动力费0.60万元，会议及差旅费用26.67万元，论文发表以及资料打印等费用3.78万元。

(2) 实验材料费

预算52万元，实际支出55.51万元。主要用于购买与本研究相关的实验材料。

(3) 仪器设备费

仪器设备费预算24.00万元，实际支出共计23.49万元。主要用于购买水质检测仪、多功能水质检测仪配件_显示记录仪、18要素自动气象站系统、便携余氯分析仪、流速剖面仪、风机等实验仪器。未购置单价大于5万元以上设备。

2. 国际合作与交流费

预算16.00万元，实际支出10.13万元。主要用于与该项目合作的外国人员来华所发生费用以及本项目参加人员出访所发生费用。

3. 劳务费

预算20.00万元，实际支出19.97万元。主要用于支付无工资收入的研究生的生活补助费用。

4. 管理费 预算10.00万元，为5%的课题管理费用，实际支出10.00万元。

目前项目经费结余22.72万元，计划支出科目如下：

材料费：于和本研究相关已经购买但尚未报销的材料费的支出。

测试费：本课题测试工作已经完成，由于年底财务盘点，尚未完成测试费的报销工作，近期会报销完成。资料打印：课题结题时需打印一些材料。

负责人（签章）

年 月 日



国家自然科学基金资助项目结题报告

科研管理部门意见:	财务部门意见:	审计部门意见:
签 章 年 月 日	签 章 年 月 日	签 章 年 月 日

NSFC-REPORT-2013