

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2024.02.002

不同碳源下共存细菌对铜绿微囊藻生长的影响

孙华龙, 陈国炜, 吴雪菲, 方志鹏, 贾伟, 刘丽

(合肥工业大学 土木与水利工程学院, 安徽 合肥 230009)

摘要:铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)可通过二氧化碳浓缩机制(carbon concentrating mechanism, CCM)利用水环境中的无机碳进行光合固碳来促进自身生长,是引发淡水蓝藻水华的优势种。自然水体生态系统中菌藻共生体系是其重要组成部分,对藻华起到重要调控作用,但有关不同碳源条件下共生细菌对蓝藻藻华的影响仍不清楚。文章以铜绿微囊藻为模式蓝藻,探究在不同碳源组合下共存细菌对其生长的影响。在总碳(total carbon, TC)质量浓度为 25 mg/L 的无机碳源和有机碳源组合,环境初始菌藻比为 1:2 时,铜绿微囊藻的最大生物量达到最大值 5.0×10^7 个/mL,是纯藻对照组最大生物量的 2.05 倍;在加入 25 mg/L 的有机碳源,初始菌藻比为 5:1 时,培养周期内可预测的最大生物量达到最小,为 1.5×10^7 个/mL,仅为纯藻对照组最大生物量的 0.76 倍。结果表明:不同碳源下初始细菌的出现会极大程度地影响铜绿微囊藻的生长,其中,在无机碳源和混合碳源的营养条件下,初始细菌显著加快了铜绿微囊藻的生长繁殖。

关键词:碳源;共存细菌;微藻生长;菌藻比

中图分类号:X52

文献标志码:A

文章编号:1003-5060(2024)02-0154-08

Effects of coexisting bacteria on the growth of *Microcystis aeruginosa* under different carbon sources

SUN Hualong, CHEN Guowei, WU Xuefei, FANG Zhipeng, JIA Wei, LIU Li

(School of Civil and Hydraulic Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

Abstract: *Microcystis aeruginosa* can utilize the inorganic carbon in water environment for photosynthesis and carbon fixation through carbon concentrating mechanism (CCM) to promote its growth, which is the dominant species that causes freshwater cyanobacteria bloom. The algal-bacterial symbiosis system is an important part of natural water systems, which plays an important role in regulating algal blooms, while the system under different carbon source combinations adds many unknowns to the growth and reproduction of algae. In this paper, *Microcystis aeruginosa* was selected as the research object to explore the effects of exogenous carbon source on the growth of *Microcystis aeruginosa* under different initial ratios of bacteria to algae. When the concentration of the total carbon (TC) was 25 mg/L, the combination of inorganic carbon source and organic carbon source was added, and the initial ratio of bacteria to algae in the environment was 1:2, the predicted maximum biomass of *Microcystis aeruginosa* in the culture cycle reached 5.0×10^7 cell/mL, which was 2.05 times higher than that of the pure algae control group. When 25 mg/L organic carbon source was added and the initial ratio of bacteria to algae was 5:1, the predicted maximum biomass in the culture cycle reached the minimum, which was 1.5×10^7 cell/mL, which was only 0.76 times that of the pure algae control group. The results showed that the addition of initial bacteria under different carbon sources would

收稿日期:2022-12-16;修回日期:2023-03-07

基金项目:国家自然科学基金资助项目(42277298)

作者简介:孙华龙(2000—),男,河南许昌人,合肥工业大学硕士生;

陈国炜(1976—),女,安徽无为,博士,合肥工业大学副教授,硕士生导师,通信作者, E-mail: gwchen@hfut.edu.cn;

刘丽(1972—),女,安徽寿县人,博士,合肥工业大学教授,硕士生导师。

greatly affect the growth of *Microcystis aeruginosa*. Among them, under the nutritional conditions of inorganic carbon source and mixed carbon source, the addition of initial bacteria would greatly accelerate the growth and reproduction of *Microcystis aeruginosa*.

Key words: carbon source; coexisting bacteria; microalgae growth; ratio of bacteria to algae

蓝藻有害藻华对水资源和人类健康的影响已成为 21 世纪全球关注的主要问题^[1-2]。在过去的几十年里,由于蓝藻的存在,我国经历了几次水危机事件^[3]。当水体中藻华开始腐烂时,耗氧量增加,水体中的生物大量死亡,进而加剧水体污染^[4]。因此,对藻类的生长控制一直是水体富营养化及藻华治理的主要目标^[5]。

藻类在大量繁殖的同时,会与其他细菌发生相互作用^[6-7],两者可能为争夺营养物质及生存空间发生相互抑制的竞争关系^[8],也会进行营养互补的有益相互作用^[9],这些关系会随环境中生物因素或非生物因素的变化而改变。其中,碳源对微生物的生长与竞争具有重要作用^[10]。然而,对碳源等条件如何影响菌藻关系仍需深入研究。

文献^[11]表明,许多微藻体内的二氧化碳浓缩机制(carbon concentrating mechanism, CCM)已进化为一种适应机制,可以帮助微藻提高碳同化效率,以克服其自然环境中经常出现的二氧化碳可利用性有限的挑战。在大多数情况下,污水厂对污水的处理仅仅聚焦于有机碳的去除,往往忽略了无机碳的存在,而铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)既是蓝藻水华的主要优势藻种^[12-13],也通过 CCM 利用水环境中的无机碳进行光合作用固碳来促进自身的生长^[14]。因此本文选取藻铜绿微囊藻作为研究藻种,菌种选自含有与铜绿微囊藻有作用菌属的活性污泥。

本文将从不同碳源组合下的菌藻互作机制出发,以菌藻体系为研究对象,选取铜绿微囊藻和活性污泥细菌,探究在不同碳源组合下共存细菌对铜绿微囊藻生长的影响,研究结果将为淡水藻华的治理提供一定的理论依据。

1 材料与方 法

1.1 实验藻种

实验采用藻种为铜绿微囊藻(FACHB-905),购自中国科学院水生生物研究所淡水藻种库(武汉),培养于 BSG400 人工气候培养箱(博讯,上海)中,设置培养箱温度为(25±1)℃,光照强度为 2 000 lux,光暗比为 12 h/12 h,接种后瓶口用已灭好菌的透气膜进行封口处理。铜绿微囊藻的

接种与培养均采用 BG11 液体培养基,培养时每天摇动 2~3 次,使藻细胞充分吸收营养物质,并避免微藻的沉积^[15]。

1.2 实验菌种

实验中采用活性污泥混合菌为实验菌种,活性污泥取自合肥工业大学市政工程系 SBR 反应器。原始污泥群落中气单胞菌属 *Aeromonas* 数量最多,其次是噬氢菌 *Hydrogenophaga* 铁杆菌属 *Ferruginibacte* 和装甲菌纲 uncultured-bacterium-f-Fimbriimonadaceae^[16],由于活性污泥一直处于曝气状态,初始活性污泥的群落也会随之变化,经 LB 培养后群落以气单胞菌属 *Aeromonas*、邻单胞菌属 *Plesiomonas*、克雷白氏杆菌属 *Klebsiella* 为主^[17]。

取出 0.5 mL 活性污泥混合液接种至含有 250 mL 经过灭菌的 LB 培养基的 500 mL 锥形瓶中,在培养箱中 37℃ 恒温培养 16 h;培养完成后各取 40 mL 加入到 6 个 50 mL 离心管中,在 5804 高速离心机中(Eppendorf,德国)3 600 r/min 离心 10 min 后,弃去上清液并使用磷酸盐缓冲液重悬清洗,再次以 3 600 r/min 离心 10 min,重复 2 次以完全去除 LB 培养基;最后将每个离心管的底物溶解定容到 40 mL,各取 1 mL 细菌悬液分别稀释 1 000、2 000、5 000、10 000 倍,用活死染色法进行细菌计数,确定污泥细菌的密度^[18]。

1.3 实验设置

为探究细菌及碳源对铜绿微囊藻生长的影响,实验设置无机碳源、有机碳源和混合碳源 3 种不同的碳源,选用 NaHCO₃ 作为无机碳源,葡萄糖作为有机碳源,初始总碳(total carbon, TC)质量浓度设为 25 mg/L,并设置 4 种不同的初始菌藻比(0、1:2、1:1、5:1),实验组别依次为 1、2、3、4,探究不同碳源对铜绿微囊藻生长的影响;对照组是体系不加入任何外源碳源仅与大气进行气体交换的实验。各组还可探究相同碳源的不同初始菌藻比对铜绿微囊藻生长的影响。实验在人工气候箱中进行,人工气候箱设置条件与藻种培养条件一致。

实验组 1。使用 4 个 500 mL 玻璃锥形瓶作为反应器,向 4 个锥形瓶中各加入 300 mL 培养

液重悬稀释生长至对数期的藻液,使得微藻初始生物量约为 4.1×10^6 个/mL ($A_{680} = 0.18$)。向其中3个锥形瓶中分别加入 NaHCO_3 (52.5 mg)、葡萄糖(18.75 mg)、 NaHCO_3 (26.25 mg) + 葡萄糖(9.375 mg) 3种碳源。

实验组 2。向每个锥形瓶中加入 1.5 mL 的菌液(细菌生物量为 4×10^8 个/mL),使得初始菌藻比为 1:2。其余实验设置均与实验组 1 相同。

实验组 3。除初始菌藻比为 1:1 外,其余实验设置均与实验组 2 相同。

实验组 4。除初始菌藻比为 5:1 外,其余实验设置均与实验组 2 相同。

对照组。以不加入任何外源碳源在上述 4 种不同初始菌藻比的培养液中培养。各组实验设置 3 个平行样,以减小实验误差。

实验时所用培养液及组分 A、B 的成分分别见表 1、表 2 所列。

表 1 培养液成分

成分	数值
$\rho(\text{NaNO}_3)/(\text{mg/L})$	121.43
$\rho(\text{KH}_2\text{PO}_4)/(\text{mg/L})$	18.00
$\rho(\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})/(\text{mg/L})$	90.00
$\rho(\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O})/(\text{mg/L})$	14.00
$\varphi(\text{组分 A})/(\text{mL/L})$	1.25
$\varphi(\text{组分 B})/(\text{mL/L})$	1.25

表 2 组分 A 和组分 B 的成分

组分	成分	$\rho/(\text{g/L})$
A	EDTA	5.00
	FeSO_4	5.00
	EDTA	15.00
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.43
	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.99
B	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.25
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.22
	$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.19
	H_3BO_4	0.01

1.4 分析方法

1.4.1 藻细胞数量的测定

藻细胞数量的测定用血细胞计数法^[19]。从锥形瓶中取摇匀的样品藻液 3 mL 于离心管中。取适量的藻液滴入血球计数板上的计数池,并置于显微镜下,通过显微镜观察计数池内的藻细胞数量,计算得出藻液中的藻细胞密度。

1.4.2 叶绿素 a 质量浓度的测定

叶绿素 a 质量浓度使用可见光分光光度计比

色法测定^[20]。首先,从锥形瓶中取摇匀的藻液 10 mL 以 4 000 r/min 的转速离心 10 min,去掉上清液;其次,将微藻重新悬浮在 90% 丙酮(10 mL)中,在 4 °C 黑暗中保存 24 h;最后,将悬浮液在 4 000 r/min 下离心 15 min。收集上清液,用于测定叶绿素 a 质量浓度。使用紫外分光光度计测定波长为 630、645、663、750 nm 下收集的上清液的吸光度 A。使用 90% 丙酮溶液作为空白对照。叶绿素 a 的质量浓度公式为:

$$\rho_a = [11.64(A_{663} - A_{750}) - 2.16(A_{645} - A_{750}) + 0.10(A_{630} - A_{750})]V'/V \quad (1)$$

其中:V'为丙酮体积;V为样品体积。

1.4.3 碳酸盐体系的测定

实验采用滴定法测定微藻培养液中碳酸盐体系(CO_3^{2-} 和 HCO_3^-)的质量浓度^[19]。从锥形瓶中取摇匀样品藻液 5 mL 于离心管中,使用 0.22 μm 的滤膜过滤收集上清液于 250 mL 锥形瓶中,加入 45 mL 超纯水稀释水样。滴加 2 滴酚酞指示剂,振荡均匀,如出现红色,继续使用 0.005 mol/L 的盐酸标准溶液滴定至溶液红色刚刚消失,记录盐酸标准溶液的用量 V_1 。然后在此无色溶液中滴加 2 滴甲基橙指示剂,振荡均匀,溶液呈黄色,继续使用 0.005 mol/L 的盐酸标准溶液滴定至橙色,记录盐酸标准溶液的用量 V_2 。水样中 CO_3^{2-} 和 HCO_3^- 的质量浓度公式为:

$$\rho(\text{CO}_3^{2-}) = 2000V_1c/V_0 \times 60.01 \quad (2)$$

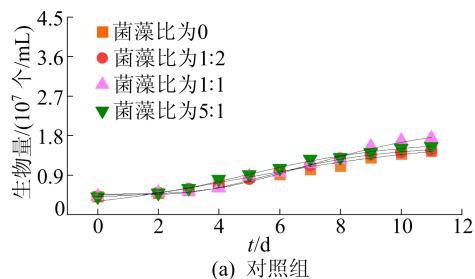
$$\rho(\text{HCO}_3^-) = \frac{1000(V_2 - V_1)c}{V_0} \times 61.017 \quad (3)$$

其中:c为盐酸标准溶液的浓度; V_0 为所取水样的体积;60.01 g/mol 为 CO_3^{2-} 的摩尔质量;61.017 g/mol 为 HCO_3^- 的摩尔质量。

2 结果与分析

2.1 不同菌藻比下铜绿微囊藻的生长情况

初始菌藻比对铜绿微囊藻在不同营养条件下的生长有不同程度的影响,如图 1 所示。



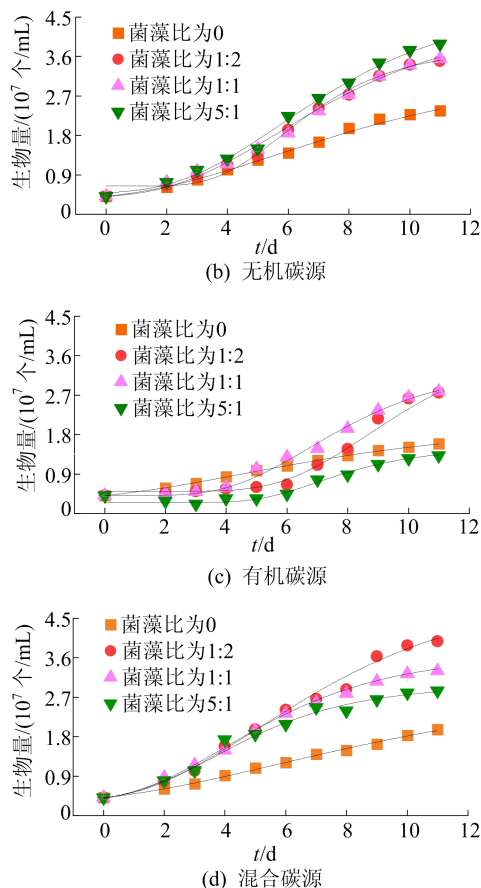


图 1 细菌对铜绿微囊藻生长的影响

由图 1a 可知,在无外源碳源的加入时,初始菌藻比从 0 增加到 1:1,铜绿微囊藻生长速度也随之加快。当初始菌藻比为 1:1 时,铜绿微囊藻可预测的最大生物量为 2.1×10^7 个/mL,相较于纯藻体系提升 33.84%;其次在初始菌藻比为 1:2 和 5:1 时,可预测的最大生物量分别为 1.8×10^7 个/mL 和 1.7×10^7 个/mL,比纯藻体系分别提升 12.81%、8.67%。

由图 1b 可知,在加入外源 25 mg/L 的 HCO_3^- 时,初始菌藻比的增大,铜绿微囊藻生长速度随之加快。初始菌藻比为 1:2 时,培养周期内可预测的铜绿微囊藻最大生物量为 3.8×10^7 个/mL,最大比增长速率为 0.540 d^{-1} ;初始菌藻比为 1:1 时,培养周期内可预测的最大生物量为 4.4×10^7 个/mL;当初始菌藻比增大到 5:1 时,培养周期内可预测的最大生物量增大到 4.7×10^7 个/mL。而纯藻对照组,实验周期内可预测的最大生物量为 3.2×10^7 个/mL。3 组加入细菌的最大生物量分别是对照组的 1.18、1.37、1.48 倍。

由图 1c 可知,加入 25 mg/L 的葡萄糖时,在有细菌加入的情况下,随着初始菌藻比的增大,铜绿微囊藻生长速度逐渐降低。初始菌藻比为 1:2

时,铜绿微囊藻有最大预测生物量,培养周期内可预测的最大生物量为 4.0×10^7 个/mL;初始菌藻比为 1:1 时,培养周期内可预测的最大生物量为 3.3×10^7 个/mL;当初始菌藻比增大到 5:1 时,培养周期内可预测的最大生物量为 1.5×10^7 个/mL。而纯藻对照组,实验周期内可预测的最大生物量为 2.0×10^7 个/mL。3 组加入了细菌的最大生物量分别是对照组的 2.05、1.70、0.76 倍。

由图 1d 可知,在加入总碳为 25 mg/L 的 HCO_3^- 和葡萄糖时,铜绿微囊藻生长最快的是初始菌藻比为 1:2 时,培养周期内可预测的最大生物量为 5.0×10^7 个/mL;生长最慢的是初始菌藻比为 5:1 时,培养周期内可预测的最大生物量为 3.0×10^7 个/mL;初始菌藻比为 1:1 介于两者之间,培养周期内可预测的最大生物量分别为 3.7×10^7 个/mL。这与图 1c 中外源碳源为 HCO_3^- 时的变化基本一致。但在混合碳源的营养条件下,3 组加入了细菌的铜绿微囊藻最大生物量均大于纯藻对照组的 2.8×10^7 个/mL。

2.2 叶绿素 a 的质量浓度

铜绿微囊藻叶绿素 a 质量浓度如图 2 所示。各组的叶绿素 a 质量浓度随着时间的延长而增加,并且在无有机碳源存在的情况下,随着初始菌藻比的升高,叶绿素 a 质量浓度也随之增大;而在有有机碳源存在的情况下,随着初始菌藻比的升高,叶绿素 a 质量浓度随之降低。

各组叶绿素 a 质量浓度均都在第 2 天后快速升高,并在第 11 天获得最大叶绿素 a 质量浓度。

由图 2a 可知:在无外源碳源加入时,初始菌藻比为 1:1 组的叶绿素 a 质量浓度最大,实验末期时为 1.70 mg/L,最小的是纯藻对照组,实验末期时为 1.41 mg/L。各组之间无显著差异。

由图 2b 可知,在外源碳源为 HCO_3^- 时,初始菌藻比为 5:1 组的叶绿素 a 质量浓度最大,实验末期时为 3.85 mg/L,最小的是纯藻对照组,实验末期时为 3.46 mg/L。

由图 2c 可知,在外源碳源为葡萄糖时,初始菌藻比为 1:1 组的叶绿素 a 质量浓度最大,实验末期时为 2.75 mg/L,最小的是初始菌藻比为 5:1 组,实验末期时为 1.29 mg/L。由图 2d 可知,在外源碳源为 HCO_3^- + 葡萄糖时,初始菌藻比为 1:2 组的叶绿素 a 质量浓度最大,实验末期时为 3.94 mg/L,最小的是初始菌藻比为 5:1 组,实验末期时为 2.26 mg/L。

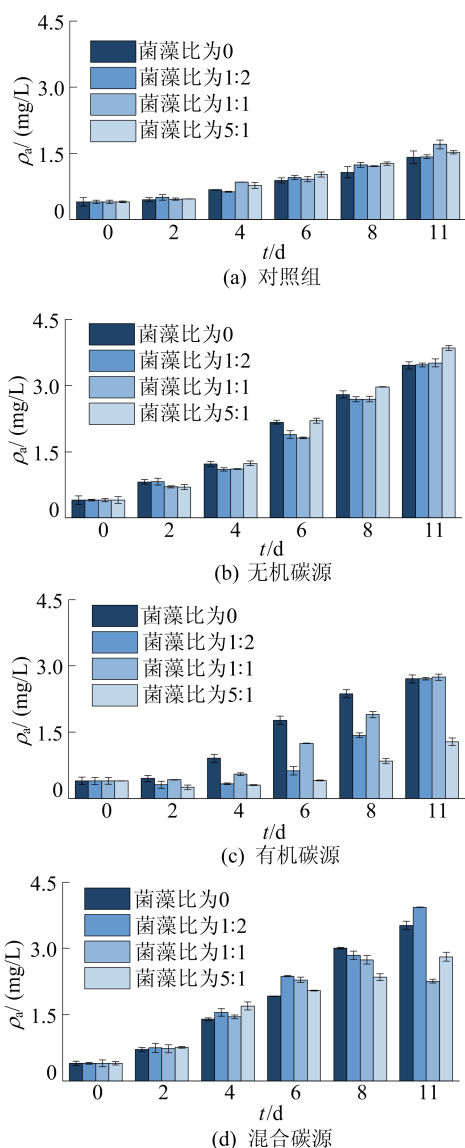
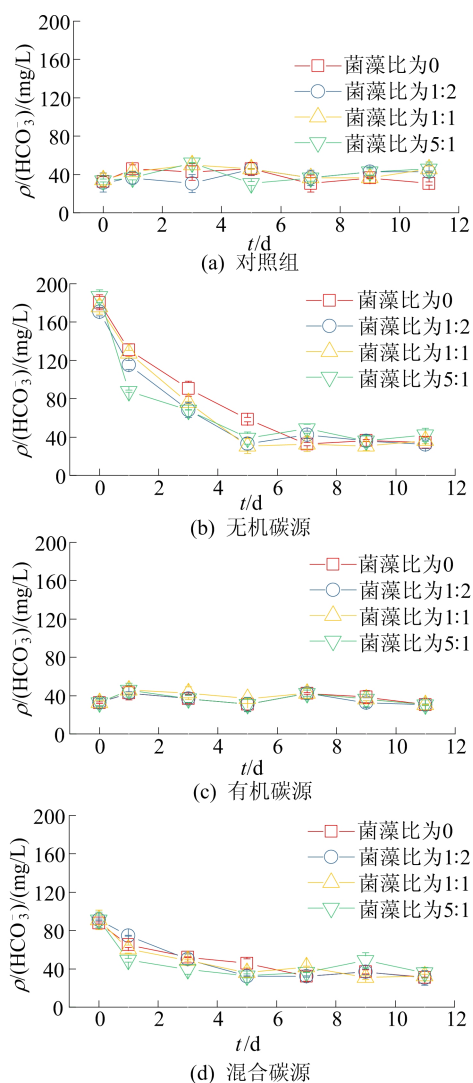


图 2 不同菌藻比下铜绿微囊藻叶绿素 a 的质量浓度

2.3 碳源的吸收

实验各组培养液中 HCO_3^- 的质量浓度变化如图 3 所示。

由图 3a、图 3c 可知,对于对照组无外源碳源和外源碳源为葡萄糖组,由于没有无机碳的加入,两者变化趋势较为一致。由于本实验没有隔绝空气,整个实验周期各组培养液均与大气有气体交换,并且呼吸作用也会释放一些 CO_2 溶解在培养液中,因此整个实验周期内两组培养液中均能检测到 HCO_3^- 的存在。由图 3b 和图 3d 可知,在加入了无机碳的实验组培养液, HCO_3^- 质量浓度在实验前几天微藻比增长速率相对较大时急剧下降,如碳源为 HCO_3^- 组在初始菌藻比 5:1 时,其质量浓度在前 6 d 从 187 mg/L 降至 49 mg/L。这与铜绿微囊藻在前几天由于碳源充足而比增长速率较大的规律保持一致。

图 3 不同菌藻比下 HCO_3^- 的质量浓度变化情况

实验各组培养液中 CO_3^{2-} 质量浓度变化如图 4 所示。加入了无机碳的实验组培养液 CO_3^{2-} 质量浓度在实验前 7 d 急剧上升。如碳源为 HCO_3^- 时,初始菌藻比为 5:1 组,其质量浓度从 0 升至 160 mg/L;碳源为 $\text{HCO}_3^- +$ 葡萄糖,初始菌藻比为 5:1 组,其质量浓度从 0 升至 95 mg/L 后没有明显的变化,但质量浓度处于不断波动中。在这 2 种碳源加入的情况下,随着初始菌藻比的增大, CO_3^{2-} 质量浓度上升得也越快。这与 HCO_3^- 消耗的趋势一致,随着 HCO_3^- 的消耗,培养液的 pH 值逐渐上升,无机碳主要以 CO_3^{2-} 的形式存在。碳源为葡萄糖组和对照组由于没有无机碳的加入,从实验开始至结束均没有检测到 CO_3^{2-} 的存在。

随着铜绿微囊藻的生长繁殖,藻细胞吸收利用培养液中的溶解态 CO_2 ,但随着铜绿微囊藻生物量的积累,溶解态 CO_2 已经不能满足铜绿微囊藻

光合作用所需,铜绿微囊藻开始吸收利用培养液中的 HCO_3^- 。铜绿微囊藻可在细胞内通过 CCM 将 HCO_3^- 转化为 CO_2 进行光合作用,且细菌的加入可帮助铜绿微囊藻更好地进行物质交换。因此,本研究中铜绿微囊藻表现出的比增长速率与初始菌藻比和碳源体系质量浓度变化关系紧密。

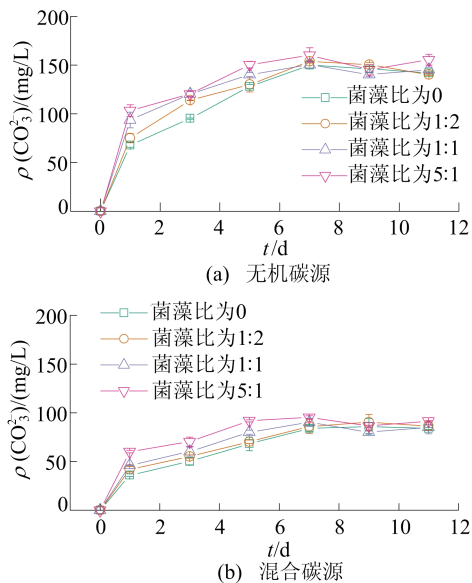


图 4 不同菌藻比下 CO_3^{2-} 质量浓度的变化情况

3 讨 论

本文研究在不同初始菌藻比下,3种碳源营养条件对铜绿微囊藻生长的影响。结果表明,不同碳源条件下初始细菌的出现会极大地影响铜绿微囊藻生长。一方面不同菌属对铜绿微囊藻生长的影响不同,如 *Rhizobium* 可以通过固氮作用为微藻提供氮源,促进微藻生长^[21]; *Bacillus*、*Sphingomonas* 等可以刺激微藻分泌更多微量营养素代谢物来刺激藻类代谢^[22],如维生素 B12、植物激素(如 IAA、脱落酸、细胞分裂素、乙烯和赤霉素)来刺激铜绿微囊藻的生长^[23-24]。但许多链霉菌属 *Streptomyces*, (如 *S. achromogenes*^[25]、*S. phaeofaciens*^[26]、*S. jiujiangensis*^[27] 等可以分泌含氨基的抑藻物质如蛋白质^[28]、赖氨酸^[26] 和含有赖氨酸的多肽^[29])抑制铜绿微囊藻的生长。另一方面,不同碳源对微藻的生长也不相同。

在无机碳源和混合碳源的营养条件下,细菌的出现会极大促进铜绿微囊藻的生长繁殖。这由于细菌与铜绿微囊藻之间存在互利共生的关系,细菌可利用铜绿微囊藻光合作用产生的氧气参与细胞内的物质能量代谢^[24],还可防止培养液内的溶解氧过高而抑制铜绿微囊藻的生长。铜绿微囊

藻可以利用细菌呼吸作用产生的 CO_2 作为自身光合作用的无机碳源,同时细菌分泌的一些信号分子(如 IAA)也会促进铜绿微囊藻的生长^[30]。

而当有外源无机碳源碳酸氢盐的加入时,因碳酸氢盐在水中溶解度较高,且与 HCO_3^- 相比 CO_3^{2-} 对光合作用没有明显的促进或抑制作用,故而 HCO_3^- 易被微藻大量吸收利用^[31]。在加入碳酸氢钠后,微藻的生物量随着初始碳酸氢钠的质量浓度增加而增大,细菌与铜绿微囊藻之间的物质交换增大了铜绿微囊藻的光合作用效率^[32],促进了叶绿素 a 的合成^[33],使得铜绿微囊藻生长变快。因此,在适宜的质量浓度下,细菌的加入有利于铜绿微囊藻的生长。

不同有机碳对铜绿微囊藻生长的影响不同。文献^[34]研究了不同浓度有机碳源(葡萄糖、丙酮酸、乙酸、 α -酮戊二酸)对铜绿微囊藻产毒的影响,研究表明,碳浓度较低尤其是葡萄糖及 α -酮戊二酸处理时毒性水平下降,而当碳浓度提高时,毒性则降到最低。藻类体内的特殊运送系统能主动吸收不同有机碳源^[35]。藻细胞对于利用何种有机碳化合物以及利用的程度也具有偏爱性^[36]。文献^[37]表明,可溶性有机碳对铜绿微囊藻生长更有利。适当浓度的葡萄糖能够促进铜绿微囊藻生长,过高浓度则会抑制^[38]。

实验中在有机碳源的营养条件下,适量初始细菌比(如菌藻比为 1:2 和 1:1)会促进铜绿微囊藻生长,但细菌数超过一定阈值便会抑制铜绿微囊藻的生长。这是由于细菌与铜绿微囊藻之间不仅是互利共生的关系,更在某些方面也存在着竞争^[6]。在有外源有机碳源的加入且细菌的质量浓度过大时,细菌快速增殖,一方面压榨了铜绿微囊藻的生存空间,遮挡光照,阻碍了铜绿微囊藻对于光能的固定利用^[39];另一方面,细菌的质量浓度过大时,铜绿微囊藻为细菌提供营养物质的压力也随之变大,铜绿微囊藻的生长相对变慢^[40]。本实验中 N 和 P 元素在实验周期内基本不受限制,因此对铜绿微囊藻叶绿素 a 的合成没有影响。

4 结 论

1) 在不同初始菌藻比下,外源碳源的存在均会影响铜绿微囊藻的生长。在 TC 质量浓度为 25 mg/L 条件下,外源无机碳和混合碳源对铜绿微囊藻生长的促进较作用较为明显,经 11 d 培养铜绿微囊藻生物量可达 $(1.97 \sim 3.98) \times 10^7$ 个/mL,显著高于对照组的 $(1.44 \sim 1.74) \times 10^7$ 个/mL,细

菌的加入显著促进了铜绿微囊藻的生长。而当外源碳源为葡萄糖时,随着初始菌藻比的增大,细菌的大量增殖,微藻的生长逐渐受到抑制。初始菌藻比从 1:2 增大到 5:1,经过 11 d 培养铜绿微囊藻生物量从 2.75×10^7 个/mL 降低到 1.32×10^7 个/mL,甚至小于纯藻对照组。

2) 在外源无机碳源和混合碳源组经 11 d 的培养后,叶绿素 a 质量浓度(2.26~3.94) mg/L,均明显高于对照组(1.41~1.70) mg/L,其中对叶绿素 a 合成影响最大的是 HCO_3^- 。无机碳源是铜绿微囊藻光合作用的重要原料,其明显影响了叶绿素的合成。在纯无机碳条件培养下,随着初始菌藻比的升高,铜绿微囊藻的叶绿素 a 质量浓度越高。当外源碳源为葡萄糖时,随着初始菌藻比的升高,铜绿微囊藻叶绿素 a 质量浓度越低,其质量浓度从 2.72 mg/L 降低至 1.29 mg/L。在混合碳源条件培养下,初始菌藻比过高也会相对抑制铜绿微囊藻叶绿素 a 的合成。

[参 考 文 献]

- [1] 张远,夏瑞,张孟衡,等. 水利工程背景下河流水华暴发成因分析及模拟研究[J]. 环境科学研究, 2017, 30(8): 1163-1173.
- [2] LYNAM C P, CUSACK C, STOKES D. A methodology for community-level hypothesis testing applied to detect trends in phytoplankton and fish communities in Irish waters[J]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2010, 87(3): 451-462.
- [3] BAI L, CAO C, WANG C, et al. Response of bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to 17β -estradiol at different nitrogen levels[J]. Chemosphere, 2019, 219: 174-182.
- [4] BERDALET E, FLEMING L E, GOWEN R, et al. Marine harmful algal blooms, human health and wellbeing: challenges and opportunities in the 21st century[J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 2016, 96(1): 61-91.
- [5] WANG H, XU C, LIU Y, et al. From unusual suspect to serial killer: cyanotoxins boosted by climate change may jeopardize megafauna[J]. The Innovation, 2021, 2(2): 100092.
- [6] ZHANG Y, SU H, ZHONG Y, et al. The effect of bacterial contamination on the heterotrophic cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* in wastewater from the production of soybean products[J]. Water Research, 2012, 46(17): 5509-5516.
- [7] FERGOLA P, CERASUOLO M, POLLIO A, et al. Allelopathy and competition between *Chlorella vulgaris* and *Pseudokirchneriella subcapitata*: experiments and mathematical model[J]. Ecological Modelling, 2007, 208(2): 205-214.
- [8] SIVAPRAGASAM C, MUTTIL N, MUTHUKUMAR S, et al. Prediction of algal blooms using genetic programming[J]. Marine Pollution Bulletin, 2010, 60(10): 1849-1855.
- [9] KOUZUMA A, WATANABE K. Exploring the potential of algae/bacteria interactions[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2015, 33: 125-129.
- [10] FINLAY J C, SMALL G E, STERNER R W. Human influences on nitrogen removal in lakes[J]. Science, 2013, 342(6155): 247-250.
- [11] AIZAWA K, MIYACHI S. Carbonic anhydrase and CO_2 concentrating mechanisms in microalgae and cyanobacteria[J]. FEMS Microbiology Reviews, 1986, 2(3): 215-233.
- [12] PARK M H, CHUNG I M, AHMAD A, et al. Growth inhibition of unicellular and colonial *Microcystis* strains (*Cyanophyceae*) by compounds isolated from rice (*Oryza sativa*) hulls[J]. Aquatic Botany, 2009, 90(4): 309-314.
- [13] GUMBO J R, CLOETE T E, VAN ZYL G, et al. The viability assessment of *Microcystis aeruginosa* cells after co-culturing with *Bacillus mycoides* B16 using flow cytometry[J]. Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C, 2014, 72: 24-33.
- [14] LIU N, YANG Y, LI F, et al. Importance of controlling pH-dependent dissolved inorganic carbon to prevent algal bloom outbreaks[J]. Bioresource Technology, 2016, 220: 246-252.
- [15] CHEN L, MAO F, KIRUMBA G C, et al. Changes in metabolites, antioxidant system, and gene expression in *Microcystis aeruginosa* under sodium chloride stress[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2015, 122: 126-135.
- [16] 李洋洋. 藻菌共生处理染料废水的共代谢机制[D]. 石河子: 石河子大学, 2022.
- [17] 贾伟. 菌藻互作体系中微藻生长规律和聚集趋势的研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2021.
- [18] BOULOS L, PREVOST M, BARBEAU B, et al. LIVE/DEAD® BacLight™: application of a new rapid staining method for direct enumeration of viable and total bacteria in drinking water[J]. Journal of Microbiological Methods, 1999, 37(1): 77-86.
- [19] 国家环保局本书编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1989.
- [20] JI X, JIANG M, ZHANG J, et al. The interactions of algae-bacteria symbiotic system and its effects on nutrients removal from synthetic wastewater[J]. Bioresource Technology, 2018, 247: 44-50.
- [21] RIVAS M O, VARGAS P, RIQUELME C E. Interactions of *Botryococcus braunii* cultures with bacterial biofilms[J]. Microb Ecol, 2010, 60(3): 628-635.
- [22] LIU Y, CHEN L, ZHANG N, et al. Plant-microbe communication enhances auxin biosynthesis by a root-associated bacterium, *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9[J]. Mol Plant Microbe Interact, 2016, 29(4): 324-330.
- [23] ZHANG B, LI W, GUO Y, et al. Microalgal-bacterial consortia: from interspecies interactions to biotechnological applications[J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2020, 118: 109563.

[参 考 文 献]

- [1] 赵志军. 车桥耦合振动数值分析[J]. 交通运输研究, 2013(1):106-108.
- [2] KISHAN H, TRAILL-NASH R W. A modal method for calculation of highway bridge response with vehicle braking [J]. Institution of Civil Engineers Transition, 1977, 19(1): 44-50.
- [3] 殷立辉. 桥头跳车对简支梁桥动力性的影响[J]. 交通标准化, 2011(14):142-144.
- [4] 殷立辉, 曹楠楠. 车桥耦合系统桥头跳车动力效应分析[J]. 黑龙江水专学报, 2010, 37(1):60-62.
- [5] 张帆, 李之达, 彭龙帆. 基于跳车试验的桥梁动力响应数值模拟[J]. 交通科技, 2017(6):51-53.
- [6] 周子骥. 跳车冲击作用下的桥梁动力响应研究[D]. 成都: 西南交通大学, 2018.
- [7] 周子骥, 高芳清, 米聪聪. 跳车冲击过程中的桥梁动态位移响应分析[J]. 噪声与振动控制, 2018, 38(2):133-137.
- [8] 赵相章, 杨忠恒, 王兴必. 跳车冲击作用下桥梁动态位移响应研究[J]. 公路交通科技(应用技术版), 2019, 15(8): 132-133.
- [9] 李丙镇. 桥上车辆跳车冲击行为的动力学影响研究[D]. 重庆: 重庆交通大学, 2019.
- [10] SIMSEK M, KOCATÜRK T. Nonlinear dynamic analysis of an eccentrically prestressed damped beam under a concentrated moving harmonic load[J]. Journal of Sound and Vibration, 2009, 320(1/2):235-253.
- (责任编辑 胡亚敏)
-
- (上接第 160 页)
- [24] RAMANAN R, KIM B H, CHO D H, et al. Algae-bacteria interactions: evolution, ecology and emerging applications [J]. Biotechnology Advances, 2016, 34(1):14-29.
- [25] WHYTE L, MAULE A, CULLIMORE D. Method for isolating cyanobacteria-lysing streptomycetes from soil [J]. Journal of Applied Bacteriology, 1985, 58(2):195-197.
- [26] YAMAMOTO Y, KOUCHIWA T, HODOKI Y, et al. Distribution and identification of actinomycetes lysing cyanobacteria in a eutrophic lake [J]. Journal of Applied Phycology, 1998, 10:391-397.
- [27] ZHANG B H, CHENG J, LI L, et al. *Streptomyces jiujiangensis* sp. nov., isolated from soil in South China [J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2014, 105:763-770.
- [28] CHOI H J, KIM B H, KIM J D, et al. Streptomyces neyagawaensis as a control for the hazardous biomass of *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria) in eutrophic freshwaters [J]. Biological Control, 2005, 33(3):335-343.
- [29] TAKAMURA Y, YAMADA T, KIMOTO A, et al. Growth inhibition of *Microcystis* cyanobacteria by L-lysine and disappearance of natural *Microcystis* blooms with spraying [J]. Microbes and Environments, 2004, 19(1): 31-39.
- [30] UNNITHAN V, UNC A, SMITH G. Mini-review: a priori considerations for bacteria-algae interactions in algal biofuel systems receiving municipal wastewaters [J]. Algal Research, 2013, 4:35-40.
- [31] KLUGHAMMER B, SULTEMEYER D, BADGER M R, et al. The involvement of NAD(P)H dehydrogenase subunits, NdhD3 and NdhF3, in high-affinity CO₂ uptake in *Synechococcus* sp. PCC7002 gives evidence for multiple NDH-1 complexes with specific roles in cyanobacteria [J]. Molecular Microbiology, 1999, 32(6):1305-1315.
- [32] WANG X, HAO C, ZHANG F, et al. Inhibition of the growth of two blue-green algae species (*Microcystis aruginosa* and *Anabaena spiroides*) by acidification treatments using carbon dioxide [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(10):5742-5748.
- [33] LUDWIG M, SULTEMEYER D, PRICE G D. Isolation of ccmKlmn genes from the marine cyanobacterium, *Synechococcus* sp. pcc7002 (Cyanophyceae), and evidence that ccmM is essential for carboxysome assembly [J]. Journal of Phycology, 2000, 36(6):1109-1119.
- [34] EL-AYOUTY Y, ABD EL-RAHMAN S. Structural variations in peptide toxins of *Microcystis aeruginosa* grown on different carbon sources [J]. Journal of Natural Toxins, 1996, 5(1):39-47.
- [35] CHUNG P, POND W, KINGSBURY J, et al. Production and nutritive value of *Arthrospira platensis*, a spiral blue-green alga grown on swine wastes [J]. Journal of Animal Science, 1978, 47(2):319-330.
- [36] VAN BAALEN C, HOARE D S, BRANDT E. Heterotrophic growth of blue-green algae in dim light [J]. Journal of Bacteriology, 1971, 105(3):685-689.
- [37] 金相灿, 郑朔方. 有机磷和无机磷对铜绿微囊藻生长的影响及动力学分析 [J]. 环境科学研究, 2006, 19(5):40-44.
- [38] 杨峰峰. 不同营养盐条件下有机碳源对铜绿微囊藻的生长影响研究 [D]. 上海: 上海交通大学, 2012.
- [39] ZHANG W, ZHANG P, SUN H, et al. Effects of various organic carbon sources on the growth and biochemical composition of *Chlorella pyrenoidosa* [J]. Bioresource Technology, 2014, 173:52-58.
- [40] FERGOLA P, CERASUOLO M, POLLIO A, et al. Allelopathy and competition between *Chlorella vulgaris* and *Pseudokirchneriella subcapitata*: experiments and mathematical model [J]. Ecological Modelling, 2007, 208(2/3/4):205-214.
- (责任编辑 闫杏丽)