

加压对微囊藻的影响及其生态风险探讨

杨翠平^{1,2}, 霍岩², 刘津², 张学治², 李林², 宋立荣²

(1. 大连海洋大学, 辽宁 大连 116023;

2. 中国科学院水生生物研究所, 中国科学院藻类生物学重点实验室, 湖北 武汉 430072)

摘要:为了探究加压对微囊藻的伪空胞、细胞形态、群体粒径、光合活性、漂浮率的影响, 缓解富营养化水体表面的蓝藻水华堆聚问题, 弄清加压后下沉蓝藻的去向及其可能导致的水质生态风险, 实验比较了在有光和无光条件下未加压和加压微囊藻的生长差异。结果显示, 在0.7 MPa、30 s加压条件下, 水体表面漂浮的微囊藻群体在加压后迅速下沉, 漂浮率由95%下降至1.99%; 藻细胞内的伪空胞破裂, 藻细胞变形萎缩, 群体粒径变小, 光合活性下降, 但细胞膜未破损。未加压和加压后的藻样在有光与无光条件下培养至第3天, 加压下沉的藻在光照条件下有17.91%重新上浮至水体表面, 并且其光合活性逐渐恢复。透射电镜结果显示, 上浮藻细胞内有伪空胞重新生成; 反转录PCR结果表明, 实验第3天, 光照加压处理组伪空胞 $gvpA$ 和 $gvpC$ 基因表达较其他实验组显著上调, 表明细胞进行了伪空胞合成过程。所有处理组水体中溶解性总氮(DTN)含量在前3 d无明显变化, 但3 d之后均不断上升; 且加压后水体中DTN含量在无光条件下比有光条件下更高。研究表明, 加压后下沉的微囊藻在无光条件下更易衰亡并释放有机物, 导致水体DTN含量增加, 应及时清除下沉蓝藻, 避免水质恶化。

关键词:加压控藻; 蓝藻水华; 伪空胞; 微囊藻; 生态风险

中图分类号:X820.6 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-3075(2020)06-0065-09

近年来, 全球气候变化与富营养化加剧了蓝藻水华的趋势, 控制蓝藻水华已成为世界性难题(Jeff et al, 2019)。我国富营养化湖泊众多, 太湖、巢湖、滇池等湖泊严重的蓝藻水华年年发生。在形成蓝藻水华的4个阶段, 即休眠、复苏、生物量增加(生长)、上浮及聚集过程中, 蓝藻可通过浮力改变在水体中的位置, 以适应环境变化, 使其获得适宜的生长条件(Dokulil & Teubner, 2000; Porat et al, 2001; Irene & Brunberg, 2004; Kong & Gao, 2005; Porat et al, 2005; 张春海等, 2010); 而蓝藻能进行浮力调节的关键因素之一就是蓝藻细胞中存在伪空胞(Bowen & Jensen, 1965; Walsby, 1972; Walsby, 1994)。1965年, 有学者运用超薄切片技术观察水华束丝藻(*Aphanizomenon flos-aquae*), 证实这些气囊由众多圆柱形的气泡叠加而成, 于是将其命名为伪空胞(Bowen & Jensen, 1965; Walsby & Eichelberger, 1968)。

收稿日期: 2020-05-08

基金项目: 国家水体污染控制与治理重大科技专项(2017ZX07203-001); 云南省科技计划项目(2018BC002); 盐城市项目(YCCG1610-121)。

作者简介: 杨翠平, 1995年生, 女, 硕士研究生, 研究方向为水环境与藻类生态。E-mail: 18856183491@163.com

通信作者: 李林。E-mail: llin@ihb.ac.cn

伪空胞浮力的调节涉及到细胞镇重物的含量改变、伪空胞合成和伪空胞的破裂等调节机制。研究表明, 藻细胞单个气囊能抵抗一定的外界压力, 如果外界压力超出压力阈值, 气囊就不可逆地破裂(Walsby & Hayes, 1989; Cheng & Qiu, 2006; 张永生等, 2010); 当受到较大的压力时, 细胞中的伪空胞结构会坍塌(Walsby, 1991; 刘建康, 2002)。已有一些研究利用加压导致蓝藻细胞内的伪空胞破裂使藻类下沉的探索, 用于控制湖泊、水库、池塘的蓝藻水华, 以减少对饮用水和水产品的危害(Cong et al, 2013; 王巍等, 2014; 丛海兵等, 2014; 蒋新跃等, 2015)。但加压控藻技术的应用可能带来潜在的生态风险, 如加压后大量蓝藻沉降到底泥表层, 在缺乏光照条件下衰亡腐败, 释放胞内物质, 可能造成水质恶化和严重的湖泛问题; 若加压之后蓝藻重新上浮, 则很有可能再次形成蓝藻水华, 且加压后若造成细胞破损, 则会导致藻细胞中的有机物释放出来再度污染水质。然而, 目前对以上问题尚缺乏研究。

本文拟通过研究加压对微囊藻细胞形态、光合活性、伪空胞和水体中溶解性总氮(dissolved total nitrogen, DTN)的影响, 探讨加压除藻技术对减少水体表面蓝藻水华的效果以及下沉藻细胞的衰亡腐败对水质的影响, 以期为加压控藻处理技术的应用及其生态风险评价提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 藻样采集

利用25号浮游植物网富集武汉官桥池塘的水华藻样,立即运送至实验室,镜检结果显示铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)为优势种,其细胞密度占比在95%以上。

1.2 藻样加压处理

加压装置如图1所示。由空气压缩机和压力罐连接而成。压力罐为定制的7L钢瓶,钢瓶高度为80.8 cm、周长为43 cm、中间柱高为57 cm。钢瓶顶部包括进水口、通气口、压力表及安全阀,底部为出水口。将从野外采集的藻液装满钢瓶,连通空气压缩机,调节其压力为0.7 MPa,待气压稳定之后,打开钢瓶的通气阀,加压30 s。加压完成后,关掉通气阀,从钢瓶的底部放出藻液。

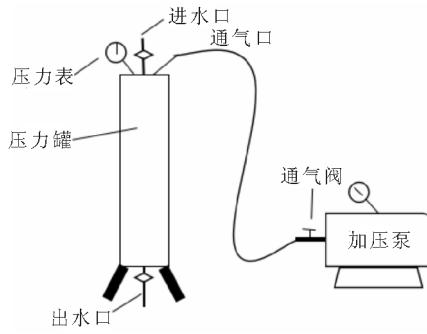


图1 加压装置示意

Fig.1 Diagram of the pressurization device

1.3 实验设计

为比较光照对未加压微囊藻、加压后微囊藻的影响,将加压前、后的藻液分别置于有光[25 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]和无光[0 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]条件下,共4个处理组。每个处理3个平行,共12个500 mL锥形瓶。每个500 mL锥形瓶中装入400 mL未加压或加压的藻液,置于无光条件下的锥形瓶全部包上锡箔纸,以模拟水体底部无光的条件。培养温度为25℃,光暗比为12:12,实验时间为15 d,前3 d每天取样,之后每4 d取样1次,每次测定不同处理组的光合活性、漂浮率、叶绿素a(Chl-a)、DTN和伪空胞基因 $gvpA$ 和 $gvpC$ 表达含量的变化。

1.4 分析方法

1.4.1 微囊藻伪空胞破裂程度鉴定与荧光显微镜观察 取加压前后的藻样各1 mL,于12 000 r/min下离心5 min后移去上清,在离心管中加入固定液,通过透射电镜HT-770(Hitachi,日本)观察藻细胞内部结构的变化;使用Nikon显微镜ECLIPSE 80i

观察加压前后藻类的形态变化。

荧光显微镜观察的方法主要是利用FDA-PI染色法(郭厚良,1989;丽斌等,2005)。取加压前后各1 mL藻液,先加终浓度为100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的FDA染液,振荡混合均匀后加入终浓度为60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的PI染液,放置5 min。用荧光显微镜(OLYMPUS BX53)进行检测并拍照。在蓝色光下(最大激发波长495 nm),活细胞发亮绿色荧光,死细胞发红色荧光(郭厚良,1989)。

1.4.2 光合活性(F_v/F_m)测定 取2 mL加压前后的藻液暗适应10 min,使用仪器Water-PAM(Heinz Walz GmbH 91090,德国)测定 F_v/F_m 。

1.4.3 加压处理后藻液漂浮率计算 用移液枪将加压前后上层漂浮藻(静置状态下)全部吸出并记录总体积,混合均匀后吸取5 mL测定叶绿素a,同时将下沉的藻混合均匀,取5 mL测定叶绿素a。藻的漂浮率(王巍等,2014)计算公式如下:

$$\eta = \theta_{上} / (\theta_{上} + \theta_{下}) \times 100\%$$

式中: η 表示藻细胞漂浮率(%); $\theta_{上}$ 为上层叶绿素a含量($\mu\text{g}/\text{L}$); $\theta_{下}$ 为下层叶绿素a含量($\mu\text{g}/\text{L}$)。

1.4.4 加压前后微囊藻粒径分布 使用FlowCAM VS4(Yarmouth,美国)测定藻液的粒径分布。使用孔径为300 μm 的不锈钢筛网过滤加压前后微囊藻液各5 mL,取过滤后的1 mL样品测定20~300 μm 藻类粒径的分布范围。

1.4.5 叶绿素a测定 取5 mL藻液,离心弃去上清,加入5 mL 90%丙酮,4℃条件下避光放置24 h,然后进行色素抽提,抽提完成后将离心管置于提前预冷的冷冻离心机中,4℃条件下6 000 r/min离心10 min。取上清液于石英比色皿中用紫外分光光度仪检测抽提液在663、645和750 nm波长下的吸光度值,根据计算公式得到藻样叶绿素a(国家环境保护总局,2002)。

1.4.6 DTN含量测定 DTN测定仪器为总有机碳分析仪(TOC-L CPH/CPN,日本)。取各处理组25 mL藻样过GF/C滤膜,收集滤液,每组样品的DTN含量测定3次。

1.4.7 微囊藻伪空胞基因表达检测

(1)总RNA的提取。将收集的藻样转移到2 mL的冻存管中,每个冻存管中加入1 mL Trizol,随后放置于破碎仪(DS1000,湖北)中破碎,破碎参数为5 000 r/min,10 s,重复6次,每破碎一轮后将冻存管置于冰上冷却30 s。破碎完成后,每1 mL

Trizol 加入 0.2 mL 氯仿,混匀后室温静置 5 min, 12 000 r/min 离心 15 min; 取 400 μL 上清到新的 1.5 mL EP 管中, 加入 500 μL 异丙醇, 混匀, 放入 4℃ 冰箱, 静置 10 min, 然后 12 000 r/min 离心 10 min, 去掉上清。用 1 mL 75% 的焦碳酸二乙脂 (diethyl pyrocarbonate, DEPC) 水洗脱, 然后 7 500 r/min 离心 5 min 去上清, 并在通风橱中去除残留的乙醇, 最后用 20 μL 灭菌的 1% DEPC 水溶解, -80℃ 保存(Lu et al, 2020)。

(2) 实时荧光定量 RT-qPCR。提取总的 RNA 用 PrimerScriptTMII 1st Strand cDNA Synthesis Kit 试剂盒反转录为 cDNA 模板。RT-qPCR 所需引物及序列见表 1(许敏, 2006)。荧光定量 PCR 反应体系为 20 μL, 包括 10 μL SYBER Green 荧光染料, 8 μL 无菌水, 引物各 0.5 μL, cDNA 为 1 μL。PCR 程序为: 预变性 95℃、3 min, 接着 40 个循环, 每个循环包括: 变性 95℃、15 s, 60℃、15 s, 72℃、30 s。相对量(表达倍数变化)采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值计算(张金丽等, 2015)。

表 1 引物序列

Tab.1 PCR primers sequence in this study

| 引物名称 | 序列(5'-3') |
|---------|-------------------------|
| 16S-1 | CCCTCGTTCTTAGTTGCCAG |
| 16S-2 | GTTTGCTGGGATTCGCTGGCT |
| gvpA1-1 | GCTCGTGTAGTTATCGCTTCG |
| gvpA1-2 | GCAGATTGAGTCAGACCAACG |
| gvpA2-1 | CGTCGGAATCGAATTATTAGCG |
| gvpA2-2 | GCAGATTGGGTAGCAGACCAACA |
| gvpA3-1 | GCTCGTGTAGTTATCGCTTCT |
| gvpA3-2 | GCAGATTGAGTCAGACCAACT |
| gvpC-1 | TGCCTGCTCTCATCGAAAAGTT |
| gvpC-2 | TTGCCTGTTCTGCGCTTGT |

1.5 数据处理

利用 SPSS16.0 进行数据分析, 所有数据采用单因素方差分析(One-way ANOVA), $P < 0.05$ 表示有显著性差异。使用 Origin 8.5 软件进行作图。

2 结果与分析

2.1 加压前后藻细胞形态与伪空胞变化

光学显微结果显示, 水体中微囊藻为优势群体, 优势种为铜绿微囊藻。经过 0.7 MPa、30 s 的加压处理后, 95% 微囊藻群体在 10 min 内迅速下沉至容器底部, 上清液透明(图 2-a, b)。加压过后, 藻细胞表面光滑, 颜色亮绿, 无明显凹凸不平状, 群体细胞较加压之前细胞间更紧实(图 2-c, d, e, f)。透射电镜图片表明, 原液中微囊藻细胞内含有大量的类

似白色蜂窝状的伪空胞, 排列紧密(王巍等, 2014; 蒋新跃等, 2015)(图 2-g)。在该加压条件下, 藻细胞内的伪空胞破裂萎缩, 可见 80% 的藻细胞变形缩小(图 2-h)。

2.2 加压前后藻细胞荧光强度变化

荧光强弱与细胞活性成正比且活细胞发亮绿色荧光, 死细胞发红色荧光。由图 3 可以看出, 在 FDA-PI 双重染色下, 原液藻荧光物质充满整个细胞, 使细胞发出亮绿色, 加压后藻的荧光强度明显低于原液藻, 且加压前后未检测到红色荧光, 表明加压后细胞活性降低但未死亡, 细胞膜完整。

2.3 加压处理后藻液粒径变化

图 4 显示了加压前后藻样在 20~300 μm 粒径范围的分布情况。加压后藻样较原液在 125~300 μm 粒径范围内大颗粒数量减少, 而在 20~125 μm 粒径范围内小颗粒数量显著增加。这与受到外界压力后藻细胞因伪空胞破裂而萎缩变小、微囊藻群体内细胞之间更紧实以及大微囊藻群体分散成小微囊藻群体有关。

2.4 藻细胞光合活性和漂浮率变化

实验可见, 加压后下沉藻的光合活性显著降低($P < 0.05$), 降至(0.17±0.03)(图 5-a), 并且加压后藻的漂浮率降至 1.99%(图 5-b), 而原液漂浮率高达 95%。

加压处理的藻在有光和无光条件下, 前 2 d 藻漂浮率均无明显变化, 但到第 3 天加压有光照组的藻细胞漂浮率上升至 17.91%, 并且在水体表面可以看到漂浮的藻颗粒, 取上浮藻测定 F_v/F_m , 发现其光合活性逐渐上升(图 5-a)。镜检结果表明, 第 3 天上浮藻细胞中伪空胞已恢复(图 2-i), 但排列不及加压前规则有序; 而有光条件下, 原藻光合活性 F_v/F_m 维持在稳定水平; 相反, 无光条件下, 前期原藻 F_v/F_m 下降, 后期维持稳定, 而加压沉降的藻的 F_v/F_m 值显著降低($P < 0.05$)且一直维持在极低水平($F_v/F_m = 0.05$), 活力较差。

2.5 叶绿素 a 含量变化

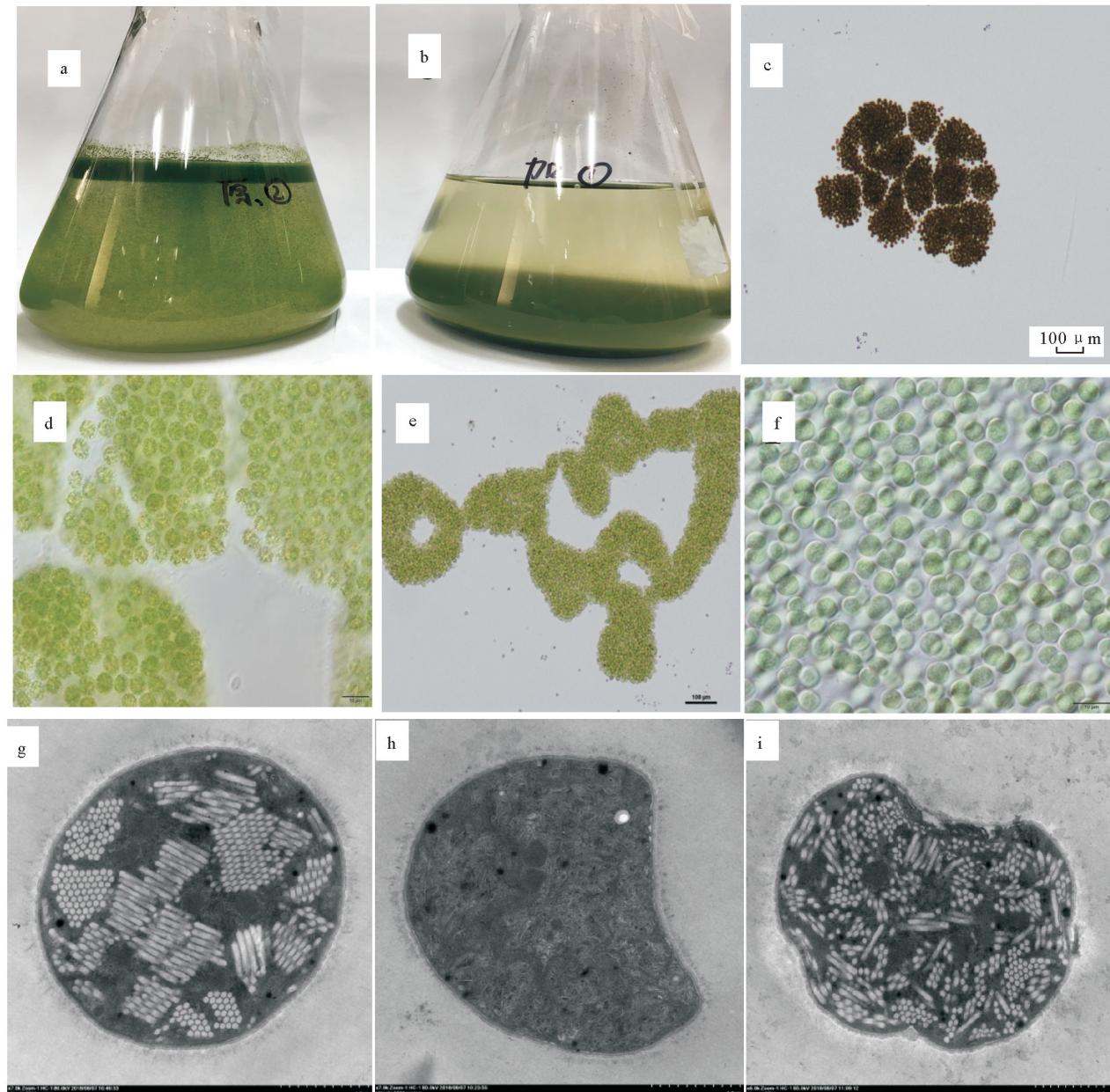
加压前后, 初始的叶绿素 a 含量无显著性差异($P > 0.05$)。在后期培养中, 所有处理组叶绿素 a 含量均不断下降(图 6)。其中无光原液组叶绿素 a 含量下降最快, 在第 15 天浓度降至 1 200 μg/L; 其次是无光加压组和光照原液组, 第 15 天的叶绿素 a 浓度分别为 2 000 μg/L 和 2 700 μg/L; 而光照加压组叶绿素 a 含量下降最慢, 第 15 天为 3 300 μg/L, 大约是无光原液组的 3 倍。

2.6 加压处理对水体溶解性总氮含量影响

加压过后,前3 d所有处理组样品的溶解性总氮(DTN)含量均与初始含量保持一致,无显著性差异($P>0.05$)(图7)。在后期的培养中,光照条件下,加压组DTN一直保持在初始水平,无任何显著性变化;而原液组DTN含量随着培养时间增加到

16 mg/L,但在第15天含量有所下降,降至9 mg/L左右。

无光条件下原液处理组DTN含量在第15天增至34 mg/L;而无光加压处理组DTN含量较光照加压组略有增加,第15天含量为9 mg/L左右,明显低于无光原液组。



(a:加压前藻液;b:加压后藻液;c:原液,100×;d:原液,1000×;e:加压藻,100×;f:加压藻,1000×;g:原液,7000×;h:加压藻,7000×;i:加压光照3 d后上浮的藻,7000×)

图2 加压前后微囊藻细胞形态

(a: *Microcystis* colonies before pressure; b: *Microcystis* colonies after pressure; c: 100× pre-pressure; d: 1000× pre-pressure; e: 100× post-pressure; f: 1000× post-pressure; g: 7000× pre-pressure; h: 7000× post-pressure; i: 7000× refloating *Microcystis* 3 days post-pressure)

Fig.2 Cell morphology of *Microcystis* before and after pressure

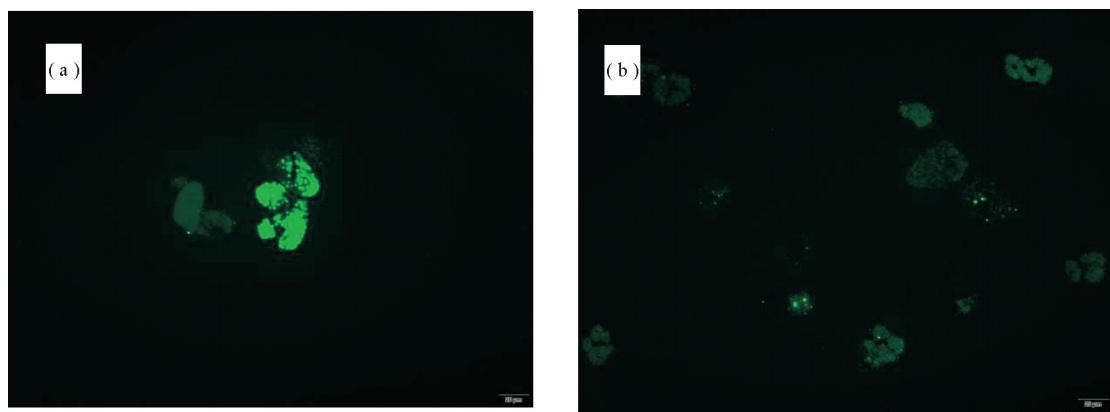


图 3 加压前后微囊藻 FDA-PI 双重染色荧光显微结构
(a: pre-pressure; b: post-pressure)

Fig.3 Fluorescence micrographs of *Microcystis* stained by FDA-PI double fluorescent dyes

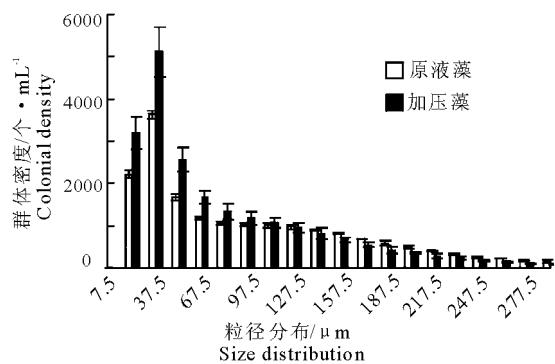
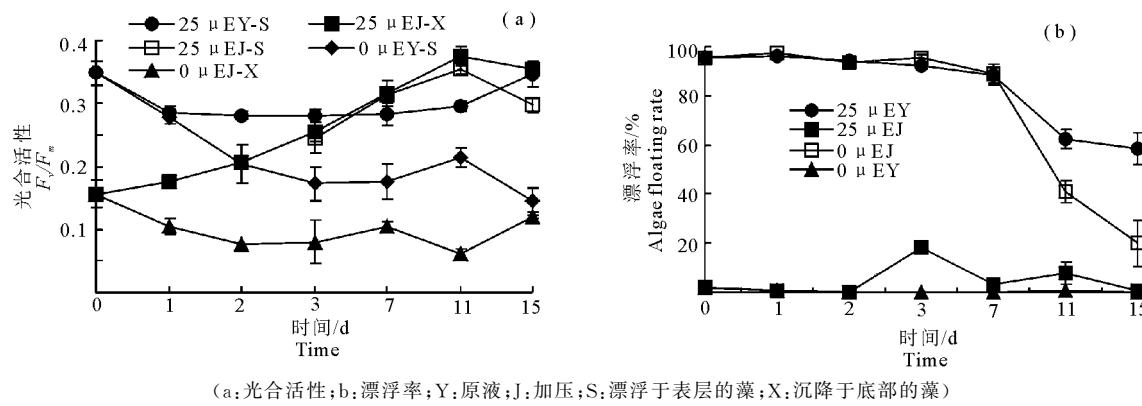


图 4 加压前后藻粒径分布的变化

Fig.4 Size distribution of *Microcystis* colonies before and after pressure treatment



(a: 光合活性; b: 漂浮率; Y: 原液; J: 加压; S: 漂浮于表层的藻; X: 沉降于底部的藻)

图 5 加压处理后光合活性和漂浮率的变化

(a: F_v/F_m ; b: the algae floating rate; Y: pre-pressure; J: post-pressure; S: algae floating at surface; X: algae settling at bottom)

Fig.5 Variation of the photosynthetic activity (F_v/F_m) and the algae floating rate of *Microcystis* before and after pressure

3 讨论

3.1 加压对微囊藻细胞生理状态的影响

伪空胞的主要功能是为细胞提供浮力并参与浮力的调节,细胞借助浮力可以在水体中垂直迁移,获得充足的光照和营养盐。伪空胞可以承受一定的压

力,但压力达到一定阈值时,伪空胞就会破裂坍塌(张永生等,2010;蒋新跃等,2015)。破裂后的伪空胞气体溶解到细胞液中,或渗透到水体中(丛海兵等,2014)。本实验中,在 0.7 MPa、30 s 的加压条件下,细胞漂浮率下降到 1.99%,大部分藻细胞下沉,上清液透明。光学显微镜显示,加压后藻细胞边缘

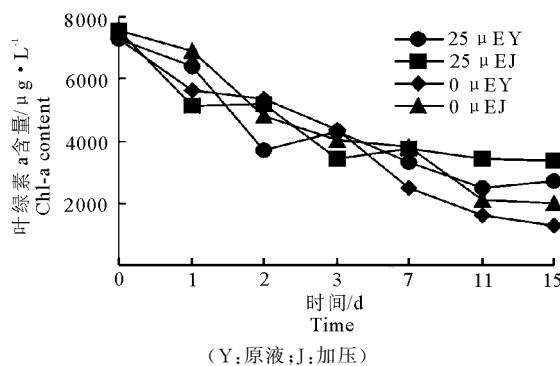


图 6 加压处理后叶绿素 a 变化

(Y: 原液; J: 加压)

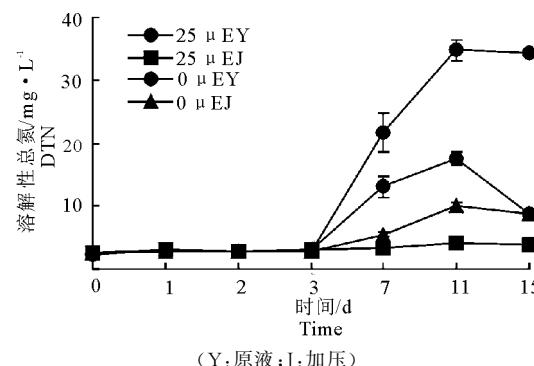
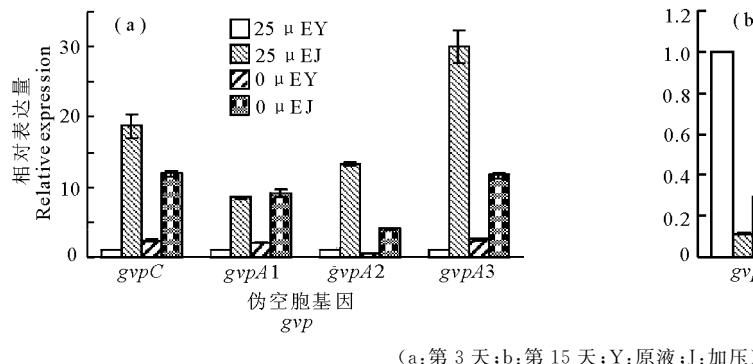
Fig.6 Variation of Chl-a in *Microcystis* before and after pressure

图 7 加压前后水体 DTN 的变化

(Y: pre-pressure; J: post-pressure)

Fig.7 Variation of DTN in the water body before and after pressure



(a: 第 3 天; b: 第 15 天; Y: 原液; J: 加压)

图 8 微囊藻伪空胞 *gvpA* 和 *gvpC* 基因的转录水平(a: on the 3rd day; b: on the 15th day; Y: pre-pressure; J: post-pressure)Fig.8 Transcript levels of *gvpA* and *gvpC* in *Microcystis*

较压破前清晰(代然等, 2012), 群体细胞间变得紧实。透射电镜结果表明, 藻细胞伪空胞破裂, 可以证明藻细胞是因浮力丧失而下沉, 与 Hayes & Walsby(1984)认为伪空胞因破裂而导致浮力丧失时间较短(20~180 min)的结论一致。蓝藻利用胞外多糖将蓝藻单细胞聚集成群体, 形成细胞间空隙, 由此产生的浮力是蓝藻水华形成的其中因素之一(张永生等, 2011)。而本实验 FlowCAM 测定结果显示, 20~125 μm 粒径范围内群体数显著增加, 且 125~300 μm 大粒径群体数减少, 原因可能是加压使细胞之间排列更紧实, 减小了细胞间空隙, 更有利于藻细胞的下沉。藻的光合作用是其重要的代谢作用之一, 而光系统 II 最大光化学量子产量(F_v/F_m)可以衡量藻在各组处理和各层次的光合作用强弱。加压过后, 细胞光合效率显著降低, 表明加压能在短时间内造成细胞活性受损, 抑制其生长。根据荧光显微镜的结果, 在 FDA-PI 双重染液的作用下, 加压后藻细胞在蓝光下均发出亮绿色的荧光, 且加压前后藻

细胞均未检测出红色荧光, 说明细胞膜的完整性, 同时表明加压未造成藻细胞死亡, 且加压后水体中 DTN 含量无显著性变化。以上结果表明, 0.7 MPa、30 s 的加压条件不会造成细胞破裂, 细胞中的物质并未释放出来, 短期内能减少水体表面的水华蓝藻, 改善水体景观效果。

3.2 加压下沉微囊藻的上浮及其伪空胞合成

在不同条件下 15 d 的培养过程中, 第 3 天, 加压后下沉的藻有一部分在有光照条件下重新上浮, 漂浮率达到 17.91%; 而在无光条件下无上浮现象, 这与王巍等(2014)认为减小光照度不利于藻类上浮的结论一致。透射电镜结果表明, 上浮藻细胞内的伪空胞恢复, 因此导致其浮力恢复, 使藻重新漂浮至表面。有研究表明, 微囊藻伪空胞全部由蛋白质组成(Jost & Jones, 1970)。GvpA 蛋白是构成伪空胞的主要蛋白(Walsby & Hayes, 1989), GvpC 蛋白是伪空胞的重要组成蛋白之一(Hayes et al, 1988), 而 *gvpA* 和 *gvpC* 基因是编码 GvpA 蛋白和 GvpC

蛋白的基因。有研究表明, *gvpA* 和 *gvpC* 在所有产伪空胞的微生物中出现(Kinsman & Hayes, 1997; Li & Cannon, 1998; Offner et al, 2000),因此推测 *gvpA* 和 *gvpC* 基因是合成微囊藻伪空胞蛋白所必需的(张永生等,2010)。

本实验通过分析伪空胞 *gvpA* 和 *gvpC* 基因的表达情况探究加压对伪空胞合成的影响。RT-qPCR 结果表明,实验第 3 天,光照条件下加压处理组 *gvpA* 基因和 *gvpC* 基因表达相较于其他实验组显著上调,表明细胞发生伪空胞合成过程。对于加压后又出现的伪空胞,已有研究推测其中一部分是利用破裂伪空胞蛋白分解成的残体再次合成,另外一部分是由氨基酸重新合成并重组伪空胞的蛋白结构(Lehmann & Jost, 1972; Hayes & Walsby, 1984)。与此同时,第 3 天光照条件下,加压下沉藻细胞光合活性也开始恢复,后期恢复到与原液一致,表明藻细胞能利用光进行正常的生理活动,恢复正常生理生长活动,有利于细胞上浮;而无光加压下层藻的 F_v/F_m 值一直维持在较低水平($F_v/F_m = 0.05$),表明藻细胞未获得足够的光照,光合活性受损,不利于细胞上浮至水体表面。这与 Luigi & Rossella(2003)提出的当位于水柱底部的群体获得足够光照时,藻细胞保持较高的光合活性及伪空胞的合成,群体细胞逐渐上浮至水体表层的结果一致;同时,该实验现象也与 Regel 等(2004)提出的较高 F_v/F_m 值意味着细胞上浮,较低 F_v/F_m 值表示细胞下沉的实验结果一致。

3.3 加压处理对水质的影响

随着后期培养时间的不断增加,无光条件下,藻的呼吸作用强于光合作用,细胞会快速消耗水体中的溶解氧,释放出 CO₂,藻细胞会出现快速死亡和腐烂现象,从而导致细胞的内含物释放到水体,增加水体 N、P 含量(刘国峰等,2015)。藻细胞自身代谢也会向水体释放氮磷,导致水体中 DTN 发生变化(陈贺林等,2020),这与本实验结果相符。在后期的培养中,无光原液组叶绿素 a 含量显著降低,藻细胞腐烂加快,导致无光原液水体中 DTN 含量不断增加,在第 15 天,DTN 含量达到最大值;而加压无光组 DTN 含量高于有光加压组,表明无光条件下加压,藻细胞更易衰亡分解;且第 15 天所有原液组漂浮率显著下降,伪空胞 *gvpA* 和 *gvpC* 基因下调,表明后期由于藻类衰亡分解,导致藻细胞内的有机物释放到水体中,致使水体中的 DTN 浓度增加。以上结果均表明,应采取措施及时清除加压后下沉的

蓝藻,防止下沉的藻在有光时重新上浮,而在无光时加速死亡分解而使水质变差。

志谢:非常感谢郑凌凌、肖媛、左艳霞、邢振飞老师在藻类培养鉴定与仪器分析上的指导;感谢白芳、左俊在实验操作与论文修改上的帮助。

参考文献

- 陈贺林,叶碧碧,吴越,等,2020. 超声波对滇池蓝藻伪空胞和群体沉降性能的影响[J]. 环境工程学报,14(1): 43–51.
- 丛海兵,郑娟,孙秀秀,2014. 压力作用后太湖蓝藻沉淀性能及其去除研究[J]. 中国给水排水,30(1): 43–47.
- 代然,储昭升,于秀娟,等,2012. 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[J]. 环境科学研究,25(1): 30–35.
- 郭厚良,1989. 荧光素二醋酸醋染显示蓝藻细胞活力[J]. 植物学通讯,6(1): 127–128.
- 国家环境保护总局,2002. 水和废水监测分析方法(4 版)[M]. 北京:中国环境科学出版社.
- 蒋新跃,刘玉娇,丛海兵,等,2015. 加压混凝沉淀对蓝藻水处理中消毒副产物的控制[J]. 环境工程学报,9(4): 1763–1770.
- 丽斌,梁文艳,曲久辉,等,2005. FDA-PI 双色荧光法检测蓝藻细胞活性的研究[J]. 环境化学,24(5): 554–557.
- 刘国峰,何俊,杨轶中,等,2015. 藻华聚集的生态效应:对凤眼莲叶绿素和光合作用的影响[J]. 环境科学,36(8): 2887–2894.
- 刘建康,2002. 高级水生生物学[M]. 北京:科学出版社:184.
- 王巍,丛海兵,徐亚军,等,2014. 不同压力作用下太湖蓝藻气囊体积分数及上浮特性研究[J]. 环境科学,35(8): 2974–2979.
- 许敏,2006. 微囊藻伪空胞基因丛的研究[D]. 武汉:中国科学院水生生物研究所.
- 张春海,陈雪初,李春杰,2010. 光照度对蓝藻垂直迁移特性影响研究[J]. 环境污染与防治,32(5): 64–67.
- 张金丽,虞龙,李玉燕,等,2015. 太湖梅梁湾藻蓝蛋白转录间隔区基因和伪空胞基因表达及其影响因子[J]. 湖泊科学,27(5): 895–901.
- 张永生,孔繁翔,于洋,等,2010. 蓝藻伪空胞的特性及浮力调节机制[J]. 生态学报,30(18): 5077–5090.
- 张永生,李海英,孔繁祥,等,2011. 群体细胞间空隙在微囊藻水华形成过程中的浮力调节作用[J]. 环境科学,32(6): 1602–1607.
- Bowen C C, Jensen T E, 1965. Blue-green algae: fine structure of the gas vacuoles[J]. Science, 147(10): 1460–1462.
- Cheng H M, Qiu B S, 2006. Cyanobacterial gas vesicles and

- their regulation on the vertical distribution of *Cyanobacteria* in water body[J]. *Plant Physiology Communications*, 42(5): 974–980.
- Cong H B, Chen W J, Xu Y J, et al, 2013. Process development of pressure reinforced coagulation and sedimentation for removing *Cyanobacteria* in source water[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 33(7): 1862–1867.
- Dokulil M T, Teubner K, 2000. Cyanobacterial dominance in lakes[J]. *Hydrobiologia*, 438(1/3): 1–12.
- Hayes P K, Lazarus C M, Bees A, 1988. The protein encoded by *gvpC* is a minor component of gas vesicles isolated from the cyanobacteria *Anabaena flos-aquae* and *Microcystis* sp.[J]. *Molecular Microbiology*, 2(5): 545–552.
- Hayes P K, Walsby A E, 1984. An investigation into the recycling of gas vesicle protein derived from collapsed gas vesicles[J]. *Microbiology*, 130(6): 1591–1596.
- Irene K E, Brunberg A K, 2004. The importance of shallow sediments in the recruitment of *Anabaena* and *Aphanizomenon* (Cyanophyceae)[J]. *Journal of Phycology*, 40(5): 831–836.
- Jeff C H, Anna M M, Nima P, 2019. Widespread global increase in intense lake phytoplankton blooms since the 1980s[J]. *Nature*, 574: 667–670.
- Jost M, Jones D D, 1970. Morphological parameters and macromolecular organization of gas vacuole membranes of *Microcystis aeruginosa* Keutz. emend. Elenkin[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 16(3): 159–164.
- Kinsman R, Hayes P K, 1997. Genes encoding proteins homologous to halobacterial GvpS N, J, K, F & L are located downstream of *gvpC* in the cyanobacterium *Anabaena flos-aquae*[J]. *DNA Sequence*, 7(2): 97–106.
- Kong F X, Gao G, 2005. Hypothesis on cyanobacteria bloom forming mechanism in large shallow eutrophic lakes[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 25(3): 589–595.
- Lehmann H, Jost M, 1972. Assembly of gas vacuoles in a cell-free system of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* Kuetz. emend. elenkin[J]. *Archives of Microbiology*, 81(1): 100–102.
- Li N, Cannon M C, 1998. Gas vesicle genes identified in *Bacillus megaterium* and functional expression in *Escherichia coli* [J]. *The Journal of Bacteriology*, 180(9): 2450–2458.
- Lu Z, Dai J C, Zheng L L, et al, 2020. Disodium 2-oxoglutarate promotes carbon flux into astaxanthin and fatty acid biosynthesis pathways in *Haematococcus* [J]. *Bioresource Technology*, DOI: 10.1016/j.biortech.2019.122612
- Luigi N F, Rossella B, 2003. Steady-state assemblages in a Mediterranean hypertrophic reservoir. The role of *Microcystis* ecomorphological variability in maintaining an apparent equilibrium[J]. *Hydrobiologia*, 172: 133–143.
- Offner S, Hofacker A, Wanner G, et al, 2000. Eight of fourteen *gvp* genes are sufficient for formation of gas vesicles in halophilic archaea[J]. *The Journal of Bacteriology*, 182(15): 4328–4336.
- Porat R, Teltsch B, Perelman A, et al, 2001. Diel buoyancy changes by the cyanobacterium *Aphanizomenon ovalisporum* from a shallow reservoir[J]. *Journal of Plankton Research*, 23(7): 753–763.
- Porat R, Teltsch B, Dubinsky Z, et al, 2005. Effect of light and pressure on gas vesicle formation and buoyancy in *Aphanizomenon ovalisporum* Forti (Cyanobacteria) from Lake Kinneret, Israel[J]. *Archiv für Hydrobiologie*, 55: 333–348.
- Regel R H, Brookes J D, Ganf G G, 2004. Vertical migration, entrainment and photosynthesis of the freshwater dinoflagellate *Peridinium cinctum* in a shallow urban lake [J]. *Plankton Res*, 26(2): 143–157.
- Walsby A E, Eichelberger H H, 1968. The fine structure of gas-vacuoles released from cells of the blue-green alga *Anabaena flos-aquae*[J]. *Archives of Microbiology*, 60: 76–83.
- Walsby A E, 1972. Structure and function of gas vacuoles [J]. *Bacterial Reviews*, 36(1): 1–32.
- Walsby A E, Hayes P K, 1989. Gas vesicle proteins[J]. *Biochemical Journal*, 264(2): 313–322.
- Walsby A E, 1991. The mechanical properties of the *Microcystis* gas vesicle[J]. *Journal of General Microbiology*, 137(10): 2401–2408.
- Walsby A E, 1994. Gas vesicles[J]. *Microbiology Reviews*, 58: 94–144.

(责任编辑 万月华)

Effects of Pressure on *Microcystis* and Its Ecological Risk

YANG Cui-ping^{1,2}, HUO Yan², LIU Jin², ZHANG Xue-zhi², LI Lin², SONG Li-rong²

(1.Dalian Ocean University, Dalian 116023,P.R.China;

2.Key Laboratory of Algal Biology, Institute of Hydrobiology, Chinese
Academy of Sciences, Wuhan 430072,P.R.China)

Abstract: Under a certain high pressure, the gas vesicles inside cyanobacteria collapse, and the cyanobacteria lose buoyancy and sink. Based on this principle, some novel technologies, such as a boat with pressure chambers and pressurized deep-well systems, have recently been developed to alleviate the problem of cyanobacterial accumulation on the surface of eutrophic waters. However, there is still a lack of research on the fate of the sunken cyanobacteria after pressure treatment and the potential ecological risk to water quality. In this study, we investigated the effect of pressure on the *Microcystis* growth and the change in water quality after treatment, focusing on the gas vesicle, cell morphology, colony size, photosynthetic activity and floating rate of *Microcystis*. Results show that under the condition of 0.7 MPa pressure for 30 s, the *Microcystis* colonies floating on the water surface rapidly sank, and the floating rate decreased from 95% to 1.99%. The gas vesicles in algal cells collapsed, algal cells deformed and shrank, and colony size and photosynthetic activity decreased, but the cell membrane was still intact. On the third day after pressure treatment, 17.91% of the sinking *Microcystis* refloated to the water surface under light, and photosynthetic activity recovered gradually. Transmission electron microscopy showed that gas vesicles were regenerated. Moreover, the results of reverse transcription PCR showed that the expression of *gvpA* and *gvpC* genes in pressurized *Microcystis* under light was significantly up-regulated compared with other experimental groups, also indicating re-synthesis of gas vesicles. The content of dissolved organic nitrogen (DTN) in all treatment groups was constant for 3 days, but then increased continuously. The DTN content in the pressurized water was higher under dark condition than with light. In summary, controlling algae with pressure causes *Microcystis* on the water surface to sink rapidly but the algae, to some extent, will regain buoyancy within 3 days if light is available. Further, with light, the *Microcystis* that do not recover tend to decay more quickly, releasing organic matter and increasing the DTN content of water. Therefore, to improve water quality, the cyanobacteria that sink after pressurization must be removed before those that recover float back to the surface and those that do not release their nutrients.

Key words: algae control by high pressure; cyanobacterial bloom; gas vesicle; *Microcystis*; ecological risk