

王菲凤, 全川, 杨芳, 等. 2011. 福州山仔水库水华微囊藻毒素时空分布特征 [J]. 环境科学学报, 31(3): 533-546

Wang F F, Tong C, Yang F, *et al*. 2011. Spatial and temporal distribution of microcystins in the Fuzhou Shanzai Reservoir [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 31(3): 533-546

福州山仔水库水华微囊藻毒素时空分布特征

王菲凤^{1,2}, 全川², 杨芳³, 陈祖亮^{1*}, 杨红玉²

1. 福建师范大学环境科学与工程学院, 福州 350007

2. 福建师范大学地理科学院, 福州 350007

3. 福州市环境监测站, 福州 350003

收稿日期: 2010-07-26

修回日期: 2010-09-15

录用日期: 2010-09-25

摘要: 在福州市第二饮用水源地山仔水库选取七里 (库区入口)、库心 (库区中心) 和坝前 (库区出口) 3 个典型断面, 研究了 2008 年 7~12 月蓝藻水华发生至消退后期水体中溶解性微囊藻毒素 (Extracellular Microcystins, EMCs) 和藻细胞内微囊藻毒素 (Intracellular Microcystins, MCs) 2 种主要异构体 (Microcystin-LR, Microcystin-RR) 的时空分布特征, 并采用固相萃取-超高效液相色谱法分析了这 2 种异构体 MC-LR、MC-RR 的浓度水平。结果表明, 山仔水库蓝藻水华产生的最主要微囊藻毒素亚型是 MC-LR, 其次为 MC-RR。MC-LR 浓度的时空分布特征明显, 季节性分布表现为: 秋季 > 夏季 > 冬季, 最高浓度出现在 10 月份, 分别为 MC-LR $11.43 \mu\text{g L}^{-1}$ 、EMC-LR $1.403 \mu\text{g L}^{-1}$; 水平方向空间分布呈现从水库入口到出口沿水流方向逐渐降低的显著特征; 水华暴发期垂向空间分布呈指数型衰减, 浓度峰值位于 0.5~2.0 m 的近表层水体, 消退后期垂向分布呈“W”型或“N”型波动, 浓度峰值出现在 10~25 m 的中下水层。MC-RR 总体上在低浓度范围内波动, 没有明显的时空分布规律。EMCs、MCs 浓度水平和变化特征受水温、光照、氮磷营养盐、水生生物和底泥环境生态特征等综合因素的共同影响。

关键词: 蓝藻; 微囊藻毒素; 水体富营养化; 时空分布; 山仔水库; 福州

文章编号: 0253-2468(2011) 03-533-14

中图分类号: X524

文献标识码: A

Spatial and temporal distribution of microcystins in the Fuzhou Shanzai Reservoir

WANG Feifeng^{1,2}, TONG Chuan², YANG Fang³, CHEN Zuliang^{1*}, YANG Hongyu²

1. Institute of Environmental and Engineering Science, Fujian Normal University, Fuzhou 350007

2. School of Geography Science, Fujian Normal University, Fuzhou 350007

3. Fuzhou Environmental Monitoring Station, Fuzhou 350003

Received 26 July 2010

received in revised form 15 September 2010

accepted 25 September 2010

Abstract Shanzai Reservoir, one of the drinking water resources in Fuzhou city, was examined for microcystin contamination at three locations: Qili (the entrance), Kuxin (the center) and Baqian (the exit). The concentrations of extracellular (EMCs) and intracellular microcystins (MCs) in the samples including two isomers of microcystin-LR (MC-LR) and microcystin-RR (MC-RR) were monitored from July to December in 2008 to study their temporal and spatial distribution. The results demonstrated that MC-LR was the major microcystin in the Shanzai Reservoir, but its concentration changed obviously with time and location. Seasonally, the concentration of EMC-LR and MC-LR reached $11.43 \mu\text{g L}^{-1}$ and $1.403 \mu\text{g L}^{-1}$, respectively, in October, but their concentrations decreased in the order of autumn > summer > winter. For spatial distribution, the concentrations of EMC-LR and MC-LR gradually reduced horizontally, while vertically they exhibited an exponential attenuation trend in the cyanobacterial bloom stage where the peak content levels ranged from 0.5~2 m below the surface. However, in the later stage of the algae fading period, their vertical distribution showed “W” or “N” type fluctuations where the peak content levels occurred in the 10~25 m deep water layer. Since the concentrations of EMC-RR and MC-RR were lower, they did not exhibit any apparent spatial or temporal distribution. The concentrations of EMCs and MCs could result from the influences of water temperature, illumination, nitrogen and phosphorus concentrations, hydrophytes and sediment characteristics.

Keywords cyanobacteria; microcystin; eutrophication; spatial and temporal distribution; Shanzai Reservoir; Fuzhou

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (No. B0910098); 福建省教育厅项目 (No. 03BE654-03WE711)

Supported by the Natural Science Foundation of Fujian Province (No. B0910098) and the Program of Fujian Province Office of Education (No. 03BE654, 03WE711)

作者简介: 王菲凤 (1968—), 女, 高级工程师, E-mail: wfeng@126.com; * 通讯作者 (责任作者), E-mail: Zuliang.Chen@unisa.edu.au

Biography: WANG Feifeng (1968—), female, senior engineer, E-mail: wfeng@126.com; * **Corresponding author:** E-mail: Zuliang.Chen@unisa.edu.au

1 引言 (Introduction)

水体富营养化的日趋严重及其导致的蓝藻水华频发, 已成为全球性的水环境问题, 并严重威胁着水生生态系统健康和水环境功能的正常发挥. 由蓝藻异常增殖而导致的水华污染几乎遍及世界各地, 研究发现, 25% ~ 70% 的蓝藻水华可产生毒素, 其中, 微囊藻毒素 (Microcystins MCs) 是一类分布最广泛、产生量最大、危害最严重的七肽单环肝毒素, 已被证实具有强烈的肝脏肿瘤促进作用, 并已鉴别出 80 多种 MCs 的异构体 (Messineo *et al.*, 2009). 淡水蓝藻中铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*)、水华鱼腥藻 (*Anabaena*)、颤藻 (*Oscillatoria*) 是 3 类最常见的 MCs 产毒藻属, 主要产生 MC-LR 和 MC-RR 两种毒素污染物, 急性毒性以 MC-LR 型最强 (Am *et al.*, 2003; Messineo *et al.*, 2006; Gupta *et al.*, 2003; 宋立荣, 2009). MCs 属于藻细胞内毒素, 当细胞破裂或衰老时毒素才会大量释放进入环境中. 目前, 国内外不同营养水平、气候环境条件差异的许多湖库江河水体均已出现 MCs 污染 (Abay *et al.*, 2003; 潘晓洁等, 2006; 张杭君等, 2006; Messineo *et al.*, 2006; Song *et al.*, 2007; 郑和辉等, 2007; Davis *et al.*, 2009; Messineo *et al.*, 2009). 我国是世界上水体富营养化问题较严重的国家之一, 早在 20 世纪 60 年代, 就有太湖出现蓝藻水华的报道 (顾岚, 1996). 20 世纪 90 年代以来, 环境污染的日趋严重也加剧了水体富营养化的进程, 不仅太湖、巢湖、滇池和东湖等许多湖库暴发了严重的蓝藻水华, 甚至长江、黄河等主要河流近年来也相继出现了不同程度的蓝藻水华污染, 其中, 许多天然淡水水体是城市的重要水源地, 因蓝藻水华频发而使供水安全受到严重威胁. 研究表明, 我国南方一些地区由于地表和地下饮用水受水华污染而导致的低剂量 MCs 长期暴露与人群原发性肝癌等肿瘤发病率密切相关 (陈刚等, 1996; 俞顺章等, 2001; 陈艳等, 2002). 同时, MCs 污染主要是通过饮水途径引起人体健康损害, 因此, 在 1998 年 WHO 出版的《饮用水卫生基准》(增补版) 和 2001 年我国卫生部颁发的《生活饮用水卫生规范》中推荐饮用水中 MC-LR 的浓度限值为 $1.0 \mu\text{g L}^{-1}$, 建设部颁布的《城市供水水质标准》中也增加了“存于水中藻类植物微囊藻毒素”这一检测指标, 说明 MCs 已经成为需要日常监控的重要污染指标.

福建省水库和湖泊众多, 且相当一部分湖库是饮用水源地, 如福州山仔水库、福清东张水库、平潭三十六脚湖、泉州山美水库等 (庄一廷, 2007). 目前, 这些水体均已出现不同程度的富营养化现象, 且蓝藻水华发生的频率和范围也在不断加剧和扩大. 尽管国内外学者针对水体富营养化及蓝藻水华的治理已开展了许多研究 (Msagati *et al.* 2006; Messineo *et al.* 2009; Rinta-Kanto *et al.* 2009; 宋立荣, 2009), 但由于环境问题自身的复杂多变及难以复制性, 需要对环境本底信息进行全面调查和深入了解, 才能为水体污染治理工作提供重要的基础依据, 而目前对于福建省蓝藻水华 MCs 污染现状、环境行为等基础调查的研究还十分缺乏. 山仔水库于 1994 年被确立为福州市第二饮用水源地 (周亮进等, 2008), 是福建省重要的大中水库型饮用水源地之一, 具有重要的环境生态功能及水质安全意义. 从 1994 年建库至今, 因当地适宜的气温光照条件、库区内外过量氮磷营养盐的输入, 以及不利水动力条件的共同影响作用, 致使库区水体的富营养化问题迅速恶化. 尤其是 2002 年以来, 蓝藻水华频发, 持续发生时间多在半年以上, 平均藻细胞密度达每毫升百万个, 优势藻种主要是水华微囊藻, 其次为水华鱼腥藻 (苏玉萍等, 2006; 周亮进等, 2008). 而这两种藻的主要产毒类型是 MC-LR 和 MC-RR (Rapala *et al.* 1997; Wang 2007), 具有产毒量大、毒性强的特点. 同时, 山仔水库属于峡谷型深水水库, 夏秋季具有不稳定的热分层现象, 而目前对于富营养化水体 MCs 污染的研究多数集中于浅水湖泊 (Am *et al.* 2003; 潘晓洁等, 2006; 张杭君等, 2006; Song *et al.*, 2007; Gubuz *et al.*, 2009), 有关具有热分层结构的深水水库 MCs 垂向分布特征的研究还相对较少 (Abay *et al.*, 2003; Messineo *et al.*, 2006). 因此, 本文选择山仔水库作为研究对象, 通过系统调查山仔水库水华发生和消退期间微囊藻毒素 (MC-LR 和 MC-RR) 浓度的时空分布, 综合分析其分布特征和污染规律, 并对 MCs 在水库中的环境行为及影响因素作深入探讨, 以获得该库区水华发生不同阶段重要的环境响应基础数据, 为山仔水库建立科学的蓝藻水华预警机制, 优化防控方案提供依据, 并为深水水库型饮用水源地取水口位置的合理设置和调整提供借鉴.

2 材料与方法 (Materials and methods)

2.1 山仔水库基本概况

山仔水库 1994 年建于福州市连江县敖江干流中部,属狭长河谷型水库,水库中心地理位置为北纬 26°17'51",东经 119°21'35"。该区属于亚热带季风气候,夏长冬短,气候温暖,年均气温在 14.7~19.4℃之间,7 月份最高达 24.5~28.8℃,年降水量在 1000~1800mm 之间。该库总库容 1.63 亿 m³,多年平均径流量 18.59 亿 m³,平均水深 25~30m,水力停留时间约 20.8d,库容系数 5.71,属季调节型水

库,具有灌溉、发电、供水和防洪等综合利用功能。水库枯水期为 10~3 月,多年平均流量为 29.10 m³·s⁻¹,汛期为 4~9 月,径流总量占全年的 75.4%,多年平均流量为 88.7m³·s⁻¹(周亮进等,2008)。水库周边的土地利用方式以竹林地、水稻田、地瓜地、草地为主,无大型工业污染源,生活污水和农业非点源污染是造成山仔水库富营养化的主要原因。水库水流入方向由北边的七里往南及西南的日溪往东汇合至库心,干流在库心趋向缓和,而后由东南至大坝(图 1)。

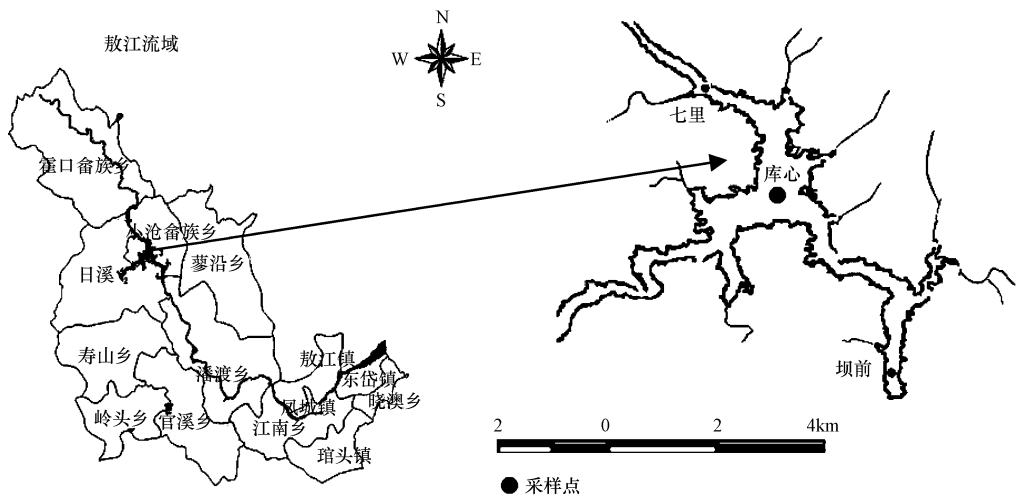


图 1 山仔水库地理位置示意及采样布设

Fig. 1 The geographical location of Shan'ai Reservoir and sampling sites

2.2 样品采集

在库区范围内选取 3 个典型断面(图 1),分别位于坝前(水库出口)、库心(水库中心)和七里(水库进口)。根据各断面中心位置实际水深情况,应用有机玻璃分层采水器在水面下 0.5、2.5、8、10、15、20、25、30、35m 和水库底层上 0.5m 等不同深度分别取 3~5 L 水样。采样时间段为 2008 年 7~12 月,每月 1 次(分别为 7 月 25 日、8 月 30 日、9 月 22 日、10 月 31 日、12 月 30 日,11 月因受风雨影响未能如期采样),每次采样时间为 9:30~12:30 均为晴天,期间经历了水库水华暴发至消退后期的整个过程。样品具体采集与保存方法按照相关规范(金相灿,1990;陈伟民等,2005)进行。

2.3 样品分析

2.3.1 仪器与试剂 仪器: Waters Acquity™ 型超高效液相色谱仪(配 Waters 2475 型 TUV 检测器);

Supelco Visiprep 固相萃取装置; LC-18 固相萃取小柱(500mg·3mL⁻¹); HGC-12A 型氮吹仪; TG16-W S 台式高速离心机; HJ-4 磁力搅拌器; SHZ-D(III)循环水式真空泵; 755B 紫外可见分光光度计; 5L 有机玻璃分层采水器; 2#浮游生物网; 声纳仪; JPB-607 型便携式溶氧仪; 塞氏圆盘等。

试剂: MC-RR 和 MC-LR 的标样(纯度>95%)购于中国科学院水生生物研究所。

2.3.2 MCs 的提取和预处理 MCs 的测定包括溶解性微囊藻毒素(extracellular microcystins, EMCs)和藻细胞内微囊藻毒素(intracellular microcystins, MCs)。取 1L 水样,经 0.45μm 醋酸纤维滤膜过滤,滤液用于测定 EMC-LR 和 EMC-RR 的浓度,滤膜上残渣用于提取分析 MC-LR 和 MC-RR 含量。

在参阅国内外相关文献(Shen et al., 2003; 闫海等,2004; Monica et al., 2005; Msagati et al.,

2006)的基础上,对采自山仔水库的水华蓝藻进行MCs提取条件和预处理方法的优化研究.

MCs提取:取上述过滤后的滤膜在-20℃下反复冻融2~3次,促使藻细胞破碎,剪碎滤膜、浸于20mL乙酸(体积分数5%)中静置过夜提取,10000 r min⁻¹离心10min,取上清液;残渣中加50mL(80%)甲醇(含0.1%TFA)溶液磁力搅拌1h,10000 r min⁻¹离心10min,取上清液,残渣中加10mL超纯水搅拌后离心,合并3次上清液.用体积分数为50%的H₂SO₄溶液调至pH=4,静置1h以除去藻蛋白,经0.45μm醋酸纤维滤膜抽滤,取过滤后清液,用蒸馏水稀释至甲醇含量低于5%,用体积分数为50%的氨水溶液调至pH=7,接着进行固相萃取(SPE)浓缩步骤(即EMCs的SPE预处理方法).

EMCs的SPE预处理: C₁₈小柱预先经10mL甲醇、10mL超纯水活化处理,将上述滤液调节pH值到7,加入5%的甲醇溶液后,以4~5mL·min⁻¹的流速过经活化处理过的SPE小柱,接着用10mL甲醇(20%)淋洗液除杂,最后用5mL甲醇(100%)(含0.1%TFA)分4次洗脱,收集洗脱液.洗脱液经氮吹仪吹至低于0.5mL,然后用50%甲醇定容至0.5mL,混匀后经0.22μm针头过滤器过滤,装瓶,-26℃保存待超高效液相色谱(UPLC)定量分析.

2.3.3 MG-RR、MG-LR的UPLC色谱分析条件 色谱

柱: ACQUITY UPLC BEH C₁₈(1.7μm, 2.1mm×100mm, Waters); 流动相: A液为含0.1%TFA的超纯水溶液, B液为色谱纯甲醇,采用浓度梯度洗脱: 47%A+53%B(0~5.50min); 30%A+70%B(5.51~9.50min); 100%B(9.51~10.00min); 47%A+53%B(10.01~14.50min). 流速: 0.3mL·min⁻¹; 检测波长: 238nm; 进样量: 10μL; 柱温: 40℃. 实验依据保留时间定性,外标法定量.

2.3.4 环境理化指标的测定 对各采样点水样还测定了pH值、总氮、总磷、叶绿素a.此外,原位同步测定了水体的DO、温度、透明度、水深等因子,测定方法均按照国家标准分析方法(金相灿,1990).

3 结果 (Results)

3.1 不同形态结构微囊藻毒素含量

山仔水库2008年7~12月水体中溶解性MCs(包括EMC-LR和EMC-RR)、细胞内MCs(包括MC-LR和MC-RR)浓度监测结果统计见表1.由表1可知,水库各取样点不同形态结构MCs浓度范围值分别为: EMC-LR nd~1.403μg·L⁻¹, EMC-RR nd~0.6276μg·L⁻¹, MC-LR 0.0095~11.43μg·L⁻¹, MC-RR 0.0578~1.187μg·L⁻¹, 平均检出率分别为: EMC-LR 86%, EMC-RR 95%, MC-LR 100%, MC-RR 100%.

表 1 山仔水库微囊藻毒素 EMC-LR、MC-LR、EMC-RR、MC-RR 浓度监测结果

Table 1 The concentrations of extracellular, intracellular microcystin-LR and microcystin-RR in Shanzai Reservoir

采样断面	MCs类型	浓度/(μg·L ⁻¹)				
		7月	8月	9月	10月	12月
七里(水库入口)	EMC-LR	nd~0.2906	0.0120~0.0446	0.0284~0.4590	0.0244~1.403	0.0103~0.0811
	MC-LR	0.0681~0.5022	0.0417~0.2936	0.1130~2.115	0.3249~11.43	0.0231~0.0985
	EMC-RR	nd~0.1063	nd	0.0018~0.1588	0.0009~0.0912	0.0210~0.0800
	MC-RR	0.0973~0.1948	0.6802~1.150	0.0050~0.1263	0.0213~0.1090	0.0529~0.9261
库心(水库中心)	EMC-LR	nd~0.2911	0.0147~0.0631	0.0076~0.2328	0.0175~0.5878	0.0100~0.0896
	MC-LR	0.1087~0.2810	0.0419~0.2415	0.1311~1.023	0.5134~6.922	0.0151~0.1888
	EMC-RR	nd~0.0500	nd	0.0005~0.0265	0.0161~0.0782	0.0096~0.0710
	MC-RR	0.0943~0.1665	0.9051~1.158	0.0031~0.0065	0.0144~0.1407	0.0175~0.1098
坝前(水库出口)	EMC-LR	nd~0.0257	nd~0.0798	0.0325~0.1135	0.0074~0.4080	0.0100~0.2350
	MC-LR	0.0536~0.3085	0.0757~0.3931	0.2317~1.086	0.2869~0.9118	0.0095~0.0526
	EMC-RR	0.0083~0.2035	nd~0.6276	nd~0.0202	0.0013~0.1078	0.0100~0.0430
	MC-RR	0.0554~0.2981	0.5172~1.187	0.0095~0.0349	0.0384~0.0792	0.0590~0.5774

注:表中数据为各监测站位不同深度水层各类MCs指标的浓度值范围,nd表示相应MCs指标浓度值低于检测限0.00025μg·L⁻¹.

3.2 不同形态结构微囊藻毒素浓度季节性分布

各形态结构MCs浓度月平均值分布见图2.由图2可知,EMC-LR、MC-LR的月均浓度呈现较明

显一致的季节变化规律.8~10月,EMC-LR和MC-LR浓度表现为逐渐升高的趋势,10月份达到峰值(最大浓度点位均出现在10月七里断面);12

月 EMC-LR 和 MC-LR 浓度值最低, MC-LR 浓度的降低速率显著大于 EMC-LR 的衰减速率, 表明随着温度的降低和水华的消退, MC-LR 在水体中的自然降解作用十分显著, 同时, 藻细胞的 MC-LR 产毒量也明显减弱. EMC-RR、MC-RR 浓度最高值均出现在 8 月份的坝前断面, 但其月均浓度则没有明显的季节变化特征, 在低浓度范围内无规律波动. 总藻毒素 EMCs 和 MCs 变化趋势与相应的 MC-LR 一致, 说明山仔水库水华污染特征总体上是由 MC-LR

的污染行为决定的, 夏末至秋季是 MCs 或 MC-LR 污染的集中时段, MC-LR 是山仔水库蓝藻水华产生的首要微囊藻毒素亚型, 其次为 MC-RR. MC-LR、MC-RR 均为 100% 检出, 说明库区始终存在 MCs 潜在污染源. 陈华等 (2000) 对山仔水库水华藻浆提取 MCs 的测定发现, MCs 平均含量为 $20.5 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 藻毒素类型主要为 MC-LR、MC-RR. 这也在一定程度上说明山仔水库蓝藻水华污染特征多年来并没有质的改变, 属于最普遍的 MCs 型污染.

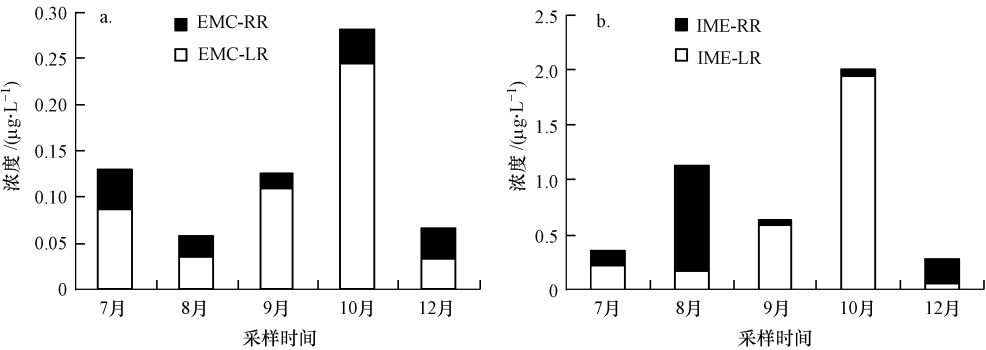


图 2 山仔水库 EMC-LR、EMC-RR 和 MC-LR、MC-RR 浓度季节性分布

Fig. 2 Seasonal variation of EMC-LR, EMC-RR and MC-LR, MC-RR concentrations in Shanzai Reservoir

3.3 不同形态结构微囊藻毒素浓度水平空间分布

分别以 3 个典型断面 5 个月样品浓度的算术平均值表征各类型微囊藻毒素水平空间分布特征, 结果见图 3. 由图 3 可知, EMCs、MCs 和 EMC-LR、MC-LR 浓度分布规律一致, 表现出从水库入口 (七里) 到出口 (坝前) 沿水流方向逐渐降低的特征, EMC-RR 和 MC-RR 浓度均显著低于 EMC-LR、MC-LR, 呈现出在全库区水体范围内相对较均衡地分布的特征. 这与上述季节性分布规律有相似之处, 表明了无论从水平空间尺度, 还是月份变化的时间尺度, 决定山仔水库水华污染程度和发展过程的毒素亚型为 MC-LR.

3.4 不同形态结构微囊藻毒素浓度垂向空间分布

以 2008 年水华暴发期 (10 月) 和消退后期 (12 月) 为水华不同发展阶段的代表, 分别考察这两个时期各典型断面不同形态结构 MCs 浓度垂向分布趋势. 由图 4 可知, 水华暴发期水库水体中各类 MCs 的浓度范围分别为: EMC-RR $0.0009 \sim 0.0912 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, EMC-LR $0.0074 \sim 1.403 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, MC-RR $0.0144 \sim 0.1407 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, MC-LR $0.1421 \sim 11.43 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. 3 个典型断面 EMC-LR、MC-LR、MC-RR 都表现出随着水库深度的增加呈明显的指数型衰减分布特征, 浓度峰值基本出现在表层 (除七里断面的 EMC-LR 浓度峰值在 2m 处); EMC-LR、MC-LR 浓度在表层 0.5~10m 处沿着水深迅速递减, 10m 之后浓度变化不明显, 基本稳定在 $0.1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右的低浓度水平. MC-RR 浓度则在表层 0.5~6m 处沿着水深垂向迅速递减, 在 6m~库底 MC-RR 浓度又缓缓升高. 水库水体中两种形态的 MC-RR 浓度比 MC-LR 浓度都普遍低 1~2 个数量级, EMC-RR 浓度处在低浓度 ($< 0.1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 水平范围, 没有表现出明显的垂向变化规律, 可能是由于低浓度指标受水体本身的扰动作用、微生物降解、光降解及其它环境因素的综合影响更敏感.

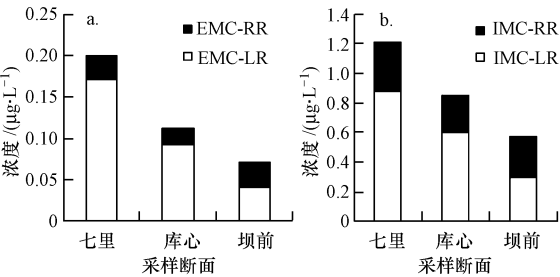


图 3 山仔水库 EMC-LR、EMC-RR 和 MC-LR、MC-RR 浓度水平空间分布

Fig. 3 Horizontal spatial variation of EMC-LR, EMC-RR and MC-LR, MC-RR concentration in the Shanzai Reservoir

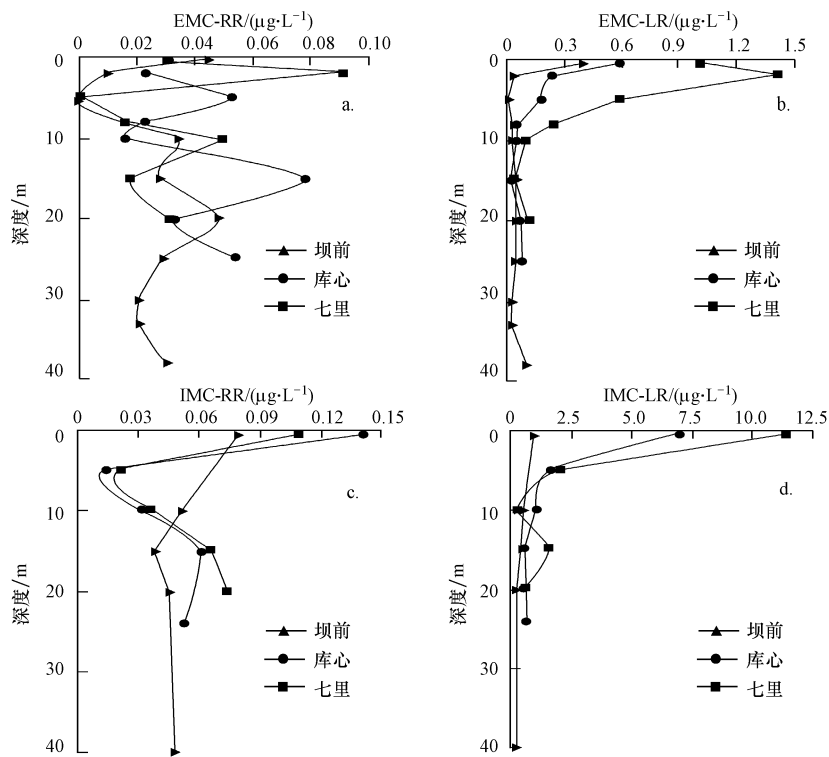


图 4 山仔水库各断面水华暴发期 MCs 浓度垂向分布趋势

Fig 4 Vertical distribution characteristics of MC-LR MC-RR concentrations during the stage of algae blooming

由图 5 可知,水华消退后期 (12 月) 水库水体中各类 MCs 的浓度范围分别为: EMC-RR 0.0096~

0.0811 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, EMC-LR 0.0100~0.2350 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, MC-RR 0.0175~0.9261 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, MC-LR 0.0096~

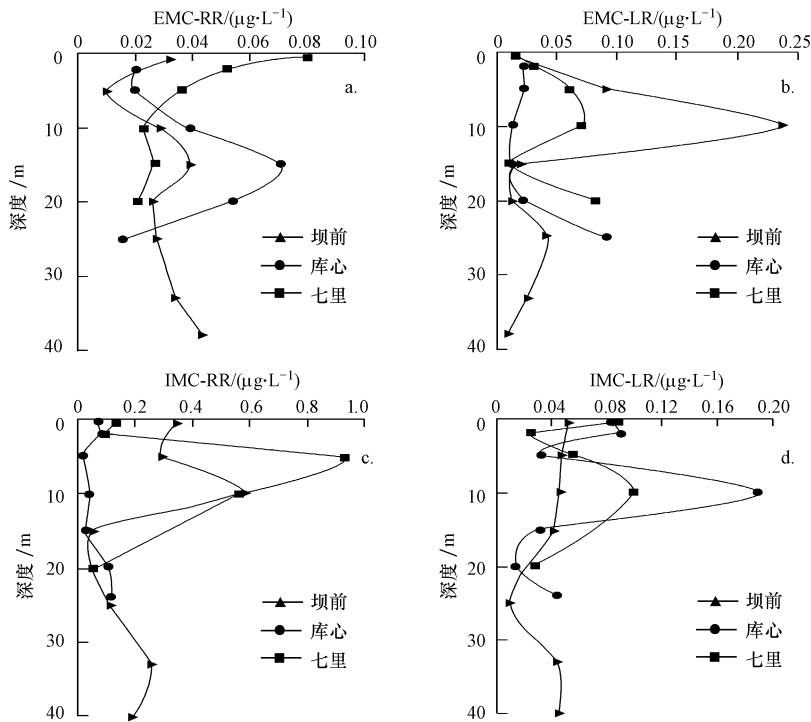


图 5 山仔水库各断面水华消退后期 MCs 浓度垂向分布趋势

Fig 5 Vertical distribution characteristics of MC-LR MC-RR concentrations during the later stage of algae fading

$0.1888 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 与暴发期相比, 溶解性和藻细胞内 MCs 的浓度均明显降低, 说明在消退后期毒素浓度都有不同程度的降解, 特别是水华暴发期在水体中最主要的毒素类型 MC-LR 浓度降低了 1~2 个数量级。

比较图 4 和图 5 发现, 水华发生不同时段 MCs 浓度峰值在垂向位置上存在差异, 暴发期 3 个断面的 MC-LR、MC-LR、MC-RR 浓度峰值较一致地出现在库表 ~ 2m 之间的上层, 而消退后期, 浓度峰值出现点沿垂向上均有不同程度的下移, 分布在 10~25m 不同垂向深度的水层。消退后期 3 个断面的 MC-LR、MC-RR 浓度峰值都在 10m 处, 库心断面的 MC-LR 浓度、七里断面的 MC-RR 浓度沿库表 ~ 15m 变化范围幅度较大; 坝前断面的 MC-LR 浓度在库表 ~ 15m 之间的变化波动大, 15~40m 之间则较稳定, 浓度峰值点在 10m 水层; 而七里和库心断面 MC-LR 浓度垂向分布波动幅度较小, 浓度峰值点分别在近库底的 20m 和 25m 水层。水华不同时期不同形态结构 MCs 指标的垂向分布差异与藻种组成、产毒基因及水体理化因子、水生生物活动和底泥环境特征等综合因素有关。

4 讨论 (Discussion)

4.1 蓝藻水华产毒特征的遗传作用与环境调控

蓝藻产毒与遗传和环境因素有关 (Rapala *et al.*, 1997; Davis *et al.*, 2009)。遗传因素首先决定所产毒素的主要类型。山仔水库的优势藻种是水华微囊藻, 同时并存的还有少量的惠氏微囊藻、水华鱼腥藻、绿藻、隐藻、颤藻等十余种蓝藻属 (苏玉萍等, 2006)。根据已有的研究, 水华微囊藻、水华鱼腥藻、颤藻等具有 MCs 的产毒基因, 属有毒藻种, 而惠氏微囊藻、绿藻、隐藻等属无毒藻种 (李效宇, 2007; 宋立荣等, 2009; Davis *et al.*, 2009)。水华微囊藻产毒的主要类型为 MC-LR、MC-RR (Wang 2007; Messineo *et al.*, 2009)。本调查显示, 山仔水库水华发生的各阶段, 水体和藻细胞内都存在 MC-LR、MC-RR 的污染, 检出率在 90% 以上, 证明了水华的产毒类型取决于优势藻种固有的产毒基因。但产毒基因只能定性反映毒素类型, 而不同类型毒素在环境中的时空分布则受周围环境生态因子的调控, 具有显著的差异, 即使在同一环境的不同地点或时段, 这种差异都可能是几个数量级 (Messineo *et al.*, 2006; Song *et al.*, 2007; Messineo *et al.*, 2009; Davis

et al., 2009)。外界环境因子通过对藻细胞分化和生长过程的调控影响, 不同程度地调节其产毒量及生物量的增长 (Orr *et al.*, 1998), 根据图 2 和图 3 山仔水库 MC-LR 的浓度在时间和空间分布上都明显地占绝对优势, MC-RR/MC-LR 比值多数是在小于 1 的一定范围内波动, 说明山仔库区水华产毒的总体特征为“MC-LR 是主导毒素, 其次为 MC-RR”, 这是该地区环境生态综合因素长期调控的结果。而同样是以水华微囊藻为优势产毒藻的太湖则表现为“MC-RR 是主导毒素, 通常占 80% 以上, MC-LR 含量较低” (Song *et al.*, 2007)。关于 MC-RR/MC-LR 比值的主要影响因素目前还不明确, 有研究提出 (Shen *et al.*, 2003; 潘晓洁等, 2006; Davis *et al.*, 2009), 高温 ($> 25^{\circ}\text{C}$) 更有利于 MC-RR 的合成, $< 25^{\circ}\text{C}$ 则有利于 MC-LR 的合成; MC-RR/MC-LR 比值随着水体中 TN/TP 比值的降低而降低, 高氮有助于合成 MC-RR, 高磷有助于合成 MC-LR。但在实际环境中, 有许多现象据此理论并不能得到合理解释, 如山仔水库在 8 月份 (水温 $22.8 \sim 31.5^{\circ}\text{C}$) 曾出现 MC-RR 10 倍左右 (与其它月份 MC-RR 值相比) 的显著异常增殖, 平均 MC-RR/MC-LR 比值为 6.02, 此现象用“高温环境使 MC-RR 的合成量增加而 MC-LR 降低”来解释是可行的, 但 12 月份水温降至 $14.0 \sim 15.3^{\circ}\text{C}$ 时, 平均 MC-RR/MC-LR 比值为 4.07, 与其它相对高温月份 (水温 $19.5 \sim 34.0^{\circ}\text{C}$) 平均 MC-RR/MC-LR 比值 ($0.0297 \sim 0.647$) 相比, 仅从温度条件显然无法合理解释; 再如太湖、滇池等水体水华在不同月份温差较大, TN/TP 的数值差异是数量级的不同, 但以 MC-RR 为主要毒素类型的特征却不会因这些差异而发生本质变化 (Song *et al.*, 2007; 潘晓洁等, 2006)。因此, 不能简单地从温度或 TN/TP 的数值大小来判定主导毒素的类型。根据蓝藻水华产毒特征的遗传作用与环境调控理论, 鉴别水华水体的优势藻种组成种类可准确预测其产毒类型, 而且在相对稳定的水体, 一般具有特定的藻种组成和产毒特征。

近年来, 关于“蓝藻水华产毒的基因遗传特征”方面的研究取得了突破性进展, 全细胞 PCR 检测法以表征毒素种类特定 DNA 基因片断为辨识依据, 快速准确地鉴别“产毒、非产毒藻”, “产毒株、无毒株”, 在定量各产毒藻株、藻种的丰度等方面, 得到广泛的应用 (Kumayer *et al.*, 2003; Rogalus *et al.*, 2008; Rinta-Kanto *et al.*, 2009), 在此基础上, 发展

了产毒基因 + 产毒基因丰度分析法 (PCR-DGGE 法), 能更深入定量各产毒基因的丰度, 进一步揭示在水华发生的不同阶段过程蓝藻内在产毒基因丰度与毒素生长代谢的变化规律, 及其与外在环境因素变化之间的相关关系和影响机理 (施丽梅等, 2009). 从产毒藻种 (株) 鉴别 $\rightarrow$ 产毒藻种 (株) 丰度定量 $\rightarrow$ 产毒藻种基因鉴别 $\rightarrow$ 产毒藻种基因丰度定量, 提升了蓝藻产毒与基因遗传关系的研究精度, 对于产毒类型、产毒水平与毒素的释放等内在因素与外围环境生态系统的关联本质和作用机理研究进一步深化 (Rogalus *et al.*, 2008; Rinta-Kanto *et al.*, 2009; 施丽梅等, 2009), 这些新理论的发展为阐释“水华产毒与水体中优势蓝藻种、水生生物的组成种类和丰度的时空演替规律的相关性”提供了科学依据. 山仔水库蓝藻水华污染的研究也需要在产毒藻种基因鉴别和定量产毒基因丰度等方面进一步深入.

4.2 微囊藻毒素季节性分布特征及影响因素

山仔水库 2008 年 7~12 月 MCs 浓度具有明显的季节性分布特征, 表现为冬季 < 夏季 < 秋季, 秋季水温为 22.8~26.0℃, 与蓝藻生长的最佳温度 (20~25℃) 基本吻合, 因此, 水华暴发阶段, 肉眼可见水库中水体表面上漂浮着团状绿色的藻絮, 微囊藻大量生长, 产毒量增加, 抑制了其他藻类的生长而迅速成为优势种群. 根据室内模拟试验结果 (Wang 2007), 微囊藻处于对数增长期时, 藻细胞密度最大, 但此时产毒量并不是最大, 到藻细胞密度不再增加并开始衰亡时, 毒素才开始大量释放出来. 而实际水体复杂的环境条件下, 处于各阶段生长期的藻往往并存, 很难表现出理论上的对数增长期、稳定期、衰亡期等绝对单一时段, 因此, 从藻类暴发期到开始衰退后的时期内必须在时空上加点加密监测, 以掌握危害最严重的程度和时间段. 在气温较高的夏季 (19.5~31.5℃), 表层水温约 30℃ 左右, 不在蓝藻生长的最佳温度范围内, 但由于垂向热分层结构的存在, 使得具有独特伪空泡组织的微囊藻能利用该浮力调节器在垂直分层明显的水体中占据生态优势, 增强竞争力而成为优势藻种. 虽然其生长速率较秋季低, 但已有研究证明, 温度提高有助于提高产毒速率和产毒量 (Messineo *et al.*, 2006; Song *et al.*, 2007; Davis *et al.*, 2009), 夏季高温时期, 藻的生长增殖较慢, 藻细胞密度可能不高, 但产毒水平或单位细胞毒素比秋季要高,

因此, 夏季也是 MCs 污染最严重的季节之一, 毒素最高值也可能出现在夏季, 如太湖水华 MCs 浓度的最高值通常出现在 6~8 月的夏季 (Song *et al.*, 2007). 对于山仔水库, 监测到夏季 MCs 的浓度比秋季低, 波动范围大, 一方面是与当地在此季节多台风暴雨有关, 水体中的 MCs 被大量雨水稀释, 还有部分被由于暴雨冲刷进入水体的大量悬浮泥沙所吸附而沉降到底泥中, 另一方面, 可能由于山仔水华微囊藻主要产毒类型为 MC-LR, 秋季的气温更有利于 MC-LR 的合成 (Shen *et al.*, 2003; Davis *et al.*, 2009), 综合因素使水库夏季的 MCs 污染较秋季小, 主要影响因素是水温和集中降水. 到了冬季热分层结构消失, 此时 14.0~15.3℃ 的水温已不能满足蓝藻生长的适宜环境, 蓝藻基本消失, 水体透明度增大, 水体中的毒素浓度维持在低浓度水平. 比较国内外湖库蓝藻水华的季节性演替规律发现, MCs 浓度从低到高的季节性分布总体表现为冬季 (12 月、1 月、2 月) < 春季 (3~5 月) < 夏秋季 (6~11 月) (Albay *et al.*, 2003; 潘晓洁等, 2006; 张杭君等, 2006; Messineo *et al.*, 2006; Song *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2008; Gurbuz *et al.*, 2009; Messineo *et al.*, 2009), 说明温度是影响各地蓝藻生物演替和毒素季节性分布特征的决定因素. 但同一季节或月份的不同时段内 MCs 浓度始终是处于波动中, 一般不会出现单向递增或递减的现象, 而往往表现为交替起伏.

10 月份七里断面的表层和 2m 水深处, EMC-LR 浓度值分别为 $1.009\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1.403\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 已超过我国卫生部《生活饮用水卫生规范》(2002 年) 及 WHO 规定的 $1.0\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准限值. MC-LR 是迄今为止被认为是毒性最强的蓝藻毒素, 规定标准限值为 $1.0\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 尽管目前只监测到少数点位一次测定的 MC-LR 值超过标准限值, 但水体中 MC-LR 最高浓度 $11.43\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 说明山仔水华优势藻种 MC-LR 的产毒风险较大. 监测表明, 即使在冬季 (12 月) 水华消退后期 EMCs 污染多数自然降解到 $0.1\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下, 但仍以一定的低浓度值广泛分布在库区水体中. 因此, 加强 EMC-LR 的日常监控已显得十分必要.

4.3 微囊藻毒素空间分布特征及影响因素

4.3.1 水平空间 库区水平空间上, 从水库入口 (七里) 到出口 (坝前) 的 EMCs、MCs 和 EMC-LR、MC-LR 浓度均呈现出沿水流方向逐渐降低的分布

特征,主要是由于水库上游水体中携带大量生活废水,库区周边的地表径流面源和底泥内源释放的共同作用,加之七里入口处水深最浅,污染物的稀释扩散力较弱,使该处水质富营养化最为严重,随着水体的流动及沿途一些支流的汇入,库区的水深也逐渐增加,明显提高了水体的自净能力,因此,沿水流方向,库心到坝前出口的水质污染程度逐渐减轻。山仔水库为狭长峡谷型水库,从上游到下游富营养化程度的差异是MCs污染横向空间分布特征的最主要影响因素。国内外其它湖库的研究也表明,富营养化程度与水华MCs毒素污染密切相关,在风力的作用下,蓝藻在下风向岸边的聚集地会导致该区MCs污染较严重(郑力等, 2004; Song *et al*, 2007; Chen *et al*, 2008; Rogalus *et al*, 2008)。

4.3.2 垂向空间 关于MCs浓度沿水深垂向分布的研究较少,已有的相关研究表明,水体中MCs浓度的最高值可能出现在不同深度的水层(Albay *et al*, 2003; Messineo *et al*, 2006; Song *et al*, 2007)。Albay等(2003)研究了土耳其两个淡水湖库EMCs垂向分布,其中,Sapanca湖属深水湖,最大水深55m,以束丝藻为优势种,考察库表0.5~30m深水柱的MCs的垂向分布,结果为表层样品均低于检出限,检出EMCs的样品中,90%采自15~25m之间的水层,最大浓度值($3.65\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)出现在20m处;Taskis湖为狭长浅水湖,最大水深4.5m,以铜绿微囊藻为优势种,考察表层和2m深水柱MCs的垂向分布,最大EMCs浓度值($2.50\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)出现在库表。Messineo等(2006)对意大利的Albano湖(最大水深170m,以束丝藻为优势种,颤藻共存),考察库表~30m深水柱MCs的垂向分布,EMCs最大浓度值($14.2\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)出现在25m处,藻细胞内毒素MCs最大值($1.50\text{pg}\cdot\text{cell}^{-1}$)出现在库表。由于已报道的研究实例都没有涉及到完整的垂向分布研究(缺乏30m~库底段),而且没有分毒素类型或形态,只是探讨了EMCs最大浓度值出现的垂向位置。

由于随着水华发展的不同阶段(发生初期→暴发期→衰退期→消退后期),蓝藻的生长、毒素的产生、水环境生态等系列因素也相应地发生变化,发生初期,毒素刚开始在新生藻细胞内合成,不会释放到水体中,此阶段的水环境基本未受毒素污染;蓝藻水华消退初期藻细胞大量破裂衰亡,此阶段水体中藻毒素的污染浓度最高,但由于开始消退的时期难以及时预估,且藻细胞开始衰亡时释放到水体

中的溶解性藻毒素自然降解的过程与复杂多样的环境生态因素综合影响有关,波动性很大,自然降解周期在四五天到两三周不等(郑力等, 2004; 张杭君等, 2006; Chen *et al*, 2008; Gurbuz *et al*, 2009; Rinta-Kanto *et al*, 2009),不同时段不同断面的垂向分布难以表现稳定的特征,因此,本研究以暴发期(藻细胞内毒素浓度峰值)和消退后期(溶解性毒素降解至近本底值)为水华不同发展阶段的典型代表,分别分析各形态MCs的浓度垂向分布趋势。主要探讨山仔水库的主导毒素亚型MC-LR的垂向分布及影响因素,对于低浓度范围内波动、毒性远小于MC-LR的次毒素MC-RR,则不需赘述。首先是暴发期MC-LR最大值($11.43\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)出现在库表0.5m处,从库表沿着水深垂向迅速递减,5m之后浓度变化不明显,这主要是由于位于表层的藻受到适宜的水温和光照,较下层藻生长速率更快,水华暴发期表层藻迅速增殖聚集,此时多数蓝藻经过对数增长后期后进入稳定期,产毒基因的丰度最大,藻细胞内合成的毒素达到相对高值(Messineo *et al*, 2006),库表水由于藻细胞数量相对最大而使储存的毒素总量最大,而悬浮在表层水体高密度聚集的藻体对阳光的吸收和散射作用,降低了水体透明度,使光照强度随深度的增加而减弱,显著阻碍了下层藻的光合作用,加之此时垂直热分层结构并未完全消失,上下水层的对流仍受限,不利于下层水体藻的增殖,因此,沿着水深垂向藻细胞数量迅速递减,暴发期水体中90%以上均为优势藻种,显然藻细胞数量与MC-LR的含量高度相关,暴发期MC-LR浓度的垂向分布主要取决于产毒藻的总量,对水体其他环境生态因子的响应迟钝(Rogalus *et al*, 2008; Rinta-Kanto *et al*, 2009; 施丽梅等, 2009)。水华消退后期,热分层结构完全消失,库表到库底的水柱温差很小,水体透明度增大,温度降低,喜夏季高温的有毒优势藻种大多数消失,藻和其他浮游生物的多样性逐渐丰富,残留的少量蓝藻从原来的团聚态转变成分散细微的形态,监测结果表明,MC-LR浓度比暴发期时降低了1~2个数量级,此阶段藻细胞数与MC-LR的含量不具有显著相关性,水体环境理化因子在垂向水柱的分布较均匀,那么影响MC-LR浓度垂向分布的主要因素可能是水柱中浮游生物的垂向分布特征,在库表0.5~5m的中上层,浮游生物种类和数量较丰富,对分散细微态的蓝藻细胞具有吸收捕食作用(Rogalus

et al., 2008), 使该层面的 MC-LR 浓度沿垂向水深先逐渐降低 (库表 0.5~5m), 而在 10m 左右的水层, 因光强光质的不利条件, 浮游生物种类和数量都急剧降低, 含有相对较多有毒藻株的蓝藻在该层面上较有竞争优势, 使 MC-LR 在 10m 左右达到浓度峰值, 再往下浮游生物和藻的数量种类明显下降, 使得 MC-LR 浓度在 10m~库底的中下层在低浓度范围内波动, 在库底 MC-LR 浓度又有所回升, 可能与下层死亡藻体部分上浮有关。总体上, 暴发期阶段 MCs 浓度的高值一般在近表层水体, 库表到库底呈指数型衰减, 中下层水体相对稳定地保持在低浓度范围, 水体生态环境的正常波动对 MCs 浓度垂向分布的干扰不明显。

EMCs 主要由藻细胞衰亡破裂时产生, 综合分析世界各地关于 MCs 浓度监测数据报道的文献资料 (Abay *et al.*, 2003; 郑力等, 2004; 潘晓洁等, 2006; 张杭君等, 2006; Messineo *et al.*, 2006; Song *et al.*, 2007; 郑和辉等, 2007; Chen *et al.*, 2008; Gubuz *et al.*, 2009; Messineo *et al.*, 2009; Rogalis *et al.*, 2008; Davis *et al.*, 2009), 历史上监测出的水体中 EMCs 的现状浓度多数维持在 $0.001\mu\text{g L}^{-1}$ 至 $10\mu\text{g L}^{-1}$ 范围内, 个别最高浓度可达每升百余微克, 不会因蓝藻的异常增殖, 藻体细胞的大量衰亡破裂而使水体中的 MCs 浓度累积上升到极端高浓度, 这说明, 虽然 MCs 具有化学结构稳定、耐高温、耐酸碱、难降解的基本理化性质, 但在实际环境生态条件下必然存在着其自然降解的途径。研究已证实 (Song *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2008; Rogalis *et al.*, 2008; Messineo *et al.*, 2009; Davis *et al.*, 2009; Rinta-Kanto *et al.*, 2009; 宋立荣等, 2009), 水体中的生物如水生菌、底泥微生物菌群和水生动植物等可以对 MCs 进行降解或转化, 已被鉴定出的具有明显降解功能的菌种如鞘氨醇单胞菌属、青枯菌属等, 生物降解是微囊藻毒素在水体环境中最主要的归趋途径; 其次, 当日照充足时, MCs 可以通过光化学降解使其毒性降低, 水体本身所含的腐殖质、藻色素能够有效促进微囊藻毒素的光降解作用。生物降解、光降解是减少微囊藻毒素累积, 减轻毒性的主要归趋途径 (张维昊等, 2004; Chen *et al.*, 2008)。此外, 稀释、吸附、生物富集等综合作用的影响也起了一定的作用, 雨量增多时, 水体的藻毒素浓度会通过稀释作用而降低, 研究也发现, 天然水体中的悬浮物至多吸附 20% 的 MCs (Rapala

et al., 1994)。在深水湖库, 水体中浮游生物的垂向分布与 MCs 的垂向分布具有一定的关系 (Messineo *et al.*, 2006; Messineo *et al.*, 2009; Rinta-Kanto *et al.*, 2009)。底泥对沉降的微囊藻残体有吸附作用, 可通过化学键作用吸附藻细胞毒素, 室内模拟实验表明, 底泥对 MCs 的吸附作用低于 20% (张维昊等, 2004)。因此, 天然环境条件下底泥吸附、微生物种群分解及底栖生物的吸收捕集作用对水体中 MCs 浓度影响程度十分复杂, 各项影响因子的权重大小还不清楚, 对 MCs 的降解过程和机理也需要更多深入的研究。上述自然降解途径对减少 MCs 累积污染所起作用的大小和过程行为, 与水体所处的地理环境、气象气候、水文条件、围隔情况、周边污染源特征、水资源开发程度和水体功能等错综复杂的因素有关。山仔水库水华暴发期, 单位体积藻细胞内毒素含量最大, 即使少量代谢到水体中, 也会明显增加 EMC-LR 的浓度, EMC-LR 浓度现状值一方面与藻细胞数量仍具有一定关系, 另一方面, 其浓度水平和变化特征也受自然降解过程的影响作用。暴发期 EMC-LR 的垂向分布总体上为库表 0.5~5m 浓度持续显著降低 (七里断面例外), 10m 之后浓度基本稳定在 $0.1\mu\text{g L}^{-1}$ 以下的低浓度水平, 这是由于表层的水温高, 有利于合成毒素的代谢, 当藻细胞数量较大时, 代谢出的 EMC-LR 也相对较多, 但近表水层 EMC-LR 浓度通过光降解和生物降解的综合作用会降解一部分, 抑制了表层 EMC-LR 浓度的上升, 而随着水深的增加, 温度、光强等逐渐偏离了毒素合成的最适宜条件, 且该阶段藻细胞仍处于生长稳定期, 代谢到水体中的溶解性毒素一般不超过 10% (Wang, 2007), EMC-LR 的浓度贡献较少来源于细胞的衰亡或破裂, 而主要为生长期有毒藻株的代谢产物, 因此, EMC-LR 浓度随着藻细胞数量的减小而减小。对于七里断面 EMC-LR 浓度值在 2m 处 ($1.403\mu\text{g L}^{-1}$) 略高于表层 ($1.009\mu\text{g L}^{-1}$), 经分析是由于该断面富营养化污染最严重, 在表层强烈阳光照射下蓝藻生长浓厚且多呈大颗粒团聚态, 降低了产毒藻株的丰度 (Rinta-Kanto *et al.*, 2009), 而 2m 水层的光强和温度的综合影响使蓝藻以较小群体生长, 适宜代谢更多的毒素, 因此, 在蓝藻水华浓厚的水体, EMCs 的浓度峰值往往在表层以下 2~5m 的水层 (Chen *et al.*, 2008)。对于水华消退后期, 具有前述的水环境生态特征 (讨论 MC-LR 垂向分布时), EMC-LR 浓度与 MC-LR 浓度局部有一定关

系,而决定其浓度水平和变化特征本质的是多途径自然降解行为的综合体现,主要与光强、浮游生物的垂直分层等有关,营养盐结构、水生细菌、底泥性质及其微生物菌群结构也是自然降解过程的重要因素 (Orr *et al.*, 1998; Am *et al.*, 2003; Messineo *et al.*, 2006; Song *et al.*, 2007; Wang 2007; Davis *et al.*, 2009). 3个断面的营养盐结构、水深、透明度等理化环境因子的差异使各断面 EMC-LR 浓度的具体垂向分布特征有一定差异性,但从库表到库底 EMC-LR 浓度总体上都是呈现升、降、升交替起伏的变化趋势,两个浓度峰值分别出现在 5~10m、20~25m 水层,峰值点比暴发期时有所下移,主要是由于此阶段水体透明度的增加提高了光降解效率和作用水层的深度,使近表层水体 (库表 0.5~5m) EMC-LR 浓度受到光降解、水生细菌生物降解、浮游生物的吸收等综合作用,降解行为明显: 5~10m 处,光降解作用显著减弱,且该水层 MC-LR 值也较高,因此, EMC-LR 浓度的第一个峰值出现在该区,在 20~25m 接近库底水层出现第二个峰值,前述 MC-LR 浓度在库底也有所回升,可能与下层死亡藻体部分上浮有关. 从理论上分析,在接近库底的水层,影响 MC-LR 浓度的环境生态因素十分复杂,一方面 EMC-LR 浓度会因下层死亡藻体部分上浮释放而增加,另一方面, MC-LR 也可通过多种途径降解,如底泥丰富的微生物菌群对上覆水体 EMC-LR 具有很强的生物降解能力,一些底栖生物可以吸收消化 MC-LR (Messineo *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2008), 且底泥本身以及因受扰动而被搅起上浮到水体的悬浮颗粒对 MC-LR 也具有一定的物理和化学吸附作用 (张维昊等, 2004; Rapala *et al.*, 1994) 等等,这些错综复杂因素综合作用的结果决定了近库底水层中 MC-LR 的浓度. 此阶段,接近山仔库底水层的 EMC-LR 浓度有所回升,说明此时下层死亡藻体的毒素释放速率仍大于综合降解的速率,随着死亡藻体的逐渐分解彻底,上覆水体的 EMC-LR 浓度将回落至较低值. 总之,消退后期阶段 MCs 浓度显著降低,垂向分布曲线呈“W”或“N”型波动,浓度峰值点沿垂向方向不同程度地下移,对水体生态环境的扰动响应较敏感, MCs 浓度垂向分布特征主要取决于自然降解综合速率和底层残余死亡藻体毒素的释放速率相抵作用的结果.

与相关研究文献 (Albay *et al.*, 2003; Messineo *et al.*, 2006; Song *et al.*, 2007) 比较分析,发现, MCs

浓度垂向分布曲线没有稳定的规律可循,较一致的表现是藻细胞内毒素高值位于表层或近表层,而溶解性毒素则可能出现在不同深度的水层,时空分布波动较大. 若利用 MCs 浓度的垂向分布规律指导取水口位置科学设立和合理调整范围,则需要长期定点地进行现场取样调查监测,积累到足够能稳定地得出科学结论的支持性数据后才能制定明确可行的设计方案.

4.4 环境生态因子与蓝藻产毒相关性研究的局限性

蓝藻水华的发生具有时空性、地域性,与环境各因子始终不断发生影响与响应、作用与反作用的密切关系,毒素基因的调控实质是与外界环境因子相协调或被驯化的过程. 为了及时有效地控制或表征产毒,长期以来,对环境与蓝藻产毒规律的相关性研究是许多学者研究的热点,包括室内模拟、现场围隔及野外采样监测等不同尺度的研究空间,利用各类数学模型和计算软件进行计算分析,希望能筛选出最主要的若干因子,建立环境因子与藻毒素的关系表达式. 研究的环境因素包括气候气象条件 (气温、降水、光照、风速风向、辐射等)、化学因素 (各形态氮磷营养盐、pH、DQ、SD、COD、SS、叶绿素 a 色素、金属离子等)、生物因素 (浮游动植物种类和数量、细菌、微生物菌群等). 目前通过室内模拟实验得出的各环境生态因子对蓝藻产毒的影响结论对于机理的探讨具有意义,但多数不能与野外现场实际情况相符,许多现场调查监测的结果无法根据相关室内模拟实验得出的结论进行合理解释. 现场围隔试验要比室内模拟相近度高一些,但仍受到围隔区域不便于观察取样分析等限制,存在对实际研究区水流风力扰动、阳光辐射、水生生物活动难以模拟等客观问题. 许多学者曾对溶解性 MCs 浓度与所处水体环境中相应温度、pH 值、叶绿素 a、各形态氮磷营养盐等理化指标数据进行回归分析,得出结果差异性大,甚至相悖 (Mine *et al.*, 2003; 郑力等, 2004; 施玮等, 2005; 潘晓洁等, 2006; 张杭君等, 2006; 杨旭光等, 2007; Song *et al.*, 2007; Johanna *et al.*, 2009), 且不同文献的研究结论可比性差. 表明环境因子对 MCs 浓度分布的影响并不是简单的线性关系,各环境因子对蓝藻产毒和毒素的释放迁移等环境行为有着错综复杂的作用关系,相互制约、相消相长,随着水华生长的不同时期、不同地理位置和气象条件等诸多因素的改变而表现出不同

程度和方式的影响行为, 目前还没有一致通用的模式能完整表达环境生态因子与蓝藻产毒的具体关系. 因此, 要掌握某富营养化水体各生态环境因子对 MCs 分布的影响规律, 必须有长期定点且完善的监测数据, 才能得出科学合理的结论, 对水环境生态安全的预警和防控措施的优化提供可靠准确的依据.

5 结论 (Conclusions)

1) 山仔水库蓝藻水华产生的最主要微囊藻毒素亚型是 MC-LR, 其次为 MC-RR. 产毒类型主要取决于水库优势藻种水华微囊藻产毒基因的遗传, 两种毒素类型在水库水华发生期浓度水平的时空分布变化特征则受该地区环境生态综合因素调控作用的影响. MC-LR 时空分布规律明显, 基本上能反映山仔水库水华 MCs 的污染行为; MC-RR 则多数在低浓度范围内波动, 季节性或空间上都未呈现明显的规律性分布特征.

2) 山仔水库水体 MC-LR 浓度的季节性分布特征明显, 2008 年 7~12 月的监测期内, 藻细胞内和溶解性 MC-LR 最高浓度都出现在 10 月份, 分别达 $11.43 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1.403 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; 相应地, MC-RR 浓度峰值都出现在 8 月份, 分别为 $1.187 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.6276 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. MC-LR 月平均浓度值从高到低排序为: 秋季 > 夏季 > 冬季, 水体温度变化是影响 MC-LR 季节性分布的决定因素.

3) 山仔水库水体藻细胞内和溶解性 MC-LR 浓度的水平分布规律为: 从库区入口到出口沿水流方向逐渐降低, 从上游到下游水体富营养化程度逐级减弱决定了 MC-LR 浓度的水平分布特征.

4) 山仔水库水华暴发期, 藻细胞内和溶解性 MC-LR 的浓度最高值出现在 0.5~2m 近表层水体, 垂向分布曲线为从库表 0.5~10m 段沿着水深呈指数型衰减, 10m 之后基本稳定在低于 $0.1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度范围, 其垂向分布主要取决于产毒藻的总量, 对水体生态环境的一般波动响应较迟钝; 水华消退后期, 藻细胞内和溶解性 MC-LR 浓度明显减小了约 1~2 个数量级, 垂向分布曲线呈“W”或“N”型波动, 浓度峰值点均有不同程度的下移, 分别分布在 10~25m 的中下水层, 其垂向分布主要是衰亡藻体毒素的释放速率和多途径自然降解速率综合相抵作用的结果, 对水体生态环境的扰动响应较敏感.

6 建议 (Suggestions)

山仔水库微囊藻毒素污染对水源地生态安全的潜在威胁必须引起高度重视, 应该将此污染物增列入日常监测指标, 特别在水华严重暴发和消退初期提高监测频率. 同时, 应根据水华发生不同阶段微囊藻毒素浓度的垂向分布特征, 优化取水口位置的合理设计和适时调整, 尽量避开藻毒素高浓度水层范围内取水, 降低取水污染风险. 鉴于山仔水库蓝藻水华污染程度和范围的日趋发展, 必须建立有效的预测预警监控系统, 制定应急处置措施, 保障水源地的饮水安全. 建议深入开展水库水华发生不同阶段产毒藻种基因鉴别和定量产毒基因丰度的相应变化等方面的研究工作, 探讨采用自然生态的方式对水华微囊藻产毒释毒条件和过程进行有效调控的可行性, 以期实现从源头上控制蓝藻水华的暴发和产毒危害.

致谢 (Acknowledgements): 福建师范大学环境科学与工程学院环境科学专业硕士生余立斌、林晓洁、魏淑珍等同学参与外场采样并协助部分实验分析, 在此表示衷心的感谢!

通讯作者简介: 陈祖亮 (1959—), 男, 教授, 博士生导师, 主要研究方向: 环境生物化学分析理论与环境修复技术应用. E-mail: Zuliang.Chen@unisa.edu.au

参考文献 (References):

- Albay M, Akcaalan R, Tufekci H, *et al*. 2003. Depth profiles of cyanobacterial hepatotoxins (microcystins) in three Turkish freshwater lakes [J]. *Hydrobiologia*, 505: 89-95
- Am M V, del Pilar D az M, Wunderlin D A. 2003. Occurrence of toxic cyanobacteria blooms in San Roque Reservoir (Cordoba, Argentina): a field and chemometric study [J]. *Toxicology*, 18(3): 192-201
- Barco M, Lawton L A, Rivera J *et al*. 2005. Optimization of intracellular microcystin extraction for their subsequent analysis by high-performance liquid chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 1074: 23-30
- Chen W, Song L R, Peng L, *et al*. 2008. Reduction in microcystin concentrations in large and shallow lakes: water and sediment-interface contributions [J]. *Water Res*, 42: 763-773
- 陈刚, 俞顺章, 卫国荣, 等. 1996. 肝癌高发区不同饮用水类型中微囊藻毒素含量调查 [J]. *中华预防医学杂志*, 30(1): 6-9
- Chen G, Yu S Z, Wei G R, *et al*. 1996. Studies on microcystin contents in different drinking water in highly endemic area of liver cancer [J]. *Chinese Journal of Preventive Medicine*, 30(1): 6-9 (in Chinese)
- 陈艳, 俞顺章, 杨坚波, 等. 2002. 太湖地区城市饮用水微囊藻毒素与恶性肿瘤死亡率的关系 [J]. *中国癌症杂志*, 12(6): 485-488
- Chen Y, Yu S Z, Yang J B, *et al*. 2002. Microcystins in drinking water

- and cancer mortality in a city along Taihu Lake[J]. *China Oncology*, 12 (6): 485-488(in Chinese)
- 陈华, 陈昱, 汪家梨, 等. 2006 福建省部分水源微囊藻毒素污染调查研究[J]. *福建医科大学学报*, 40(5): 514-515
- Chen H, Chen Y, Wang J L, *et al*. 2006 Research on the microcystin pollutant of part of the water resource in Fujian Province[J]. *Journal of Fujian Medical University*, 40(5): 514-515 (in Chinese)
- 陈伟民, 黄祥飞, 周万平, 等. 2005 湖泊生态系统观测方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社. 17-30
- Chen W M, Huang X F, Zhou W P, *et al*. 2005. The Observation Method of Lake Ecological System[M]. Beijing: China Environmental Science Press 17-30(in Chinese)
- Davis T W, Beny D L, Boyer G L, *et al*. 2009 The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms[J]. *Harmful Algae*, 8 715-725
- Gupta N, Pant S C, Vijayaraghavan R, *et al*. 2003 Comparative toxicity evaluation of cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin variants (LR, RR, YR) in mice[J]. *Toxicology*, 188 285-296
- 顾岚. 1996 太湖蓝藻暴发原因及控制措施[J]. *上海环境科学*, 15 (2): 10-11
- Gu L. 1996. The reasons and countermeasures of cyanobacterial break out in Taihu Lake[J]. *Journal of Shanghai Environmental Science*, 15 (2): 10-11 (in Chinese)
- Gurbuz F, Metcalf J S, Karahan A G, *et al*. 2009. Analysis of dissolved microcystins in surface water samples from Kovada Lake Turkey[J]. *Science of the Total Environment* 407 4038-4046
- 金相灿. 1990 湖泊富营养化调查(第2版)[M]. 北京: 中国环境科学出版社. 208-286
- Jin X C. 1990 Investigation on the Eutrophication (2nd Edition)[M]. Beijing: China Environmental Science Press 208-286 (in Chinese)
- Kumayer R, Kutzenberger T. 2003 Application of real-time PCR for quantification of microcystin genotypes in a population of the toxic cyanobacterium *Microcystis* sp. [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(11): 6723-6730
- 李效宇. 2007 微囊藻毒素及其毒理学研究[M]. 北京: 科学出版社. 3-19
- Li X Y. 2007. Microcystins and Toxicology Research[M]. Beijing: Science Press 3-19(in Chinese)
- Messineo V, Mattei D, Melchiorre S, *et al*. 2006 Microcystin diversity in a *Planktothrix rubescens* population from Lake Albano (Central Italy)[J]. *Toxicon*, 48 160-174
- Messineo V, Bogialli S, Melchiorre S, *et al*. 2009 Cyanobacterial toxins in Italian freshwaters[J]. *Limnologia*, 39 95-106
- M sagati T A, Sime BA, Shushu D D. 2006 Evaluation of methods for the isolation, detection and quantification of cyanobacterial hepatotoxins[J]. *Aquatic Toxicology*, (78): 382-397
- Orr P T, Jones G J. 1998 Relationship between microcystin production and cell division rates in nitrogen-limited *Microcystis aeruginosa* cultures[J]. *Limnol and Oceanogr*, 43 1604-1614
- 潘晓洁, 常锋毅, 沈银武, 等. 2006 滇池水体中微囊藻毒素含量变化与环境因子的相关性研究[J]. *湖泊科学*, 18(6): 572-578
- Pan X J, Chang F Y, Shen Y W, *et al*. 2006 The correlation between the variation of microcystin content and environment factors in Dianchi Lake[J]. *Journal of Lake Sciences*, 18(6): 572-578(in Chinese)
- Rogalski M, K W, Watzin M C. 2008. Evaluation of sampling and screening techniques for tiered monitoring of toxic cyanobacteria in lakes[J]. *Harmful Algae*, 7 504-514
- Rapala J, Sivonen K, Lyra C, *et al*. 1997 Variation of microcystin, cyanobacterial hepatotoxins in *Anabaena* spp as a function of growth stimulation[J]. *Appl Environ Microbiol*, 72: 6101-6110
- Rapala J, Lahti K, Sivonen K, *et al*. 1994 Biodegradability and adsorption on lake sediments of cyanobacterial hepatotoxins and anatoxin-a[J]. *Lett Appl Microbiol*, 19 423-428
- Rinta-Kanto JM, Saxton M A, DeBruyn JM, *et al*. 2009 The diversity and distribution of toxigenic *Microcystis* spp in present day and archived pelagic and sediment samples from Lake Erie[J]. *Harmful Algae*, 8 385-394
- Rinta-Kanto JM, Konopko E A, DeBruyn JM, *et al*. 2009 Lake Erie *Microcystis*: Relationship between microcystin production dynamics of genotypes and environmental parameters in a large lake[J]. *Harmful Algae*, 8 665-673
- Shen P P, Shi Q, Hua Z C, *et al*. 2003. Analysis of microcystins in cyanobacterial blooms and surface water samples from Meiliang Bay, Taihu Lake, China[J]. *Environment International*, 29: 641-647
- 施玮, 吴和岩, 赵树青, 等. 2005 淀山湖水质富营养化和微囊藻毒素污染水平[J]. *环境科学*, 26(5): 55-62
- Shi W, Wu H Y, Zhao N Q, *et al*. 2005. Eutrophication and pollution level of microcystin in Dianshan Lake[J]. *Environmental Science*, 26(5): 55-62(in Chinese)
- 施丽梅, 蔡元锋, 杨华林, 等. 2009 太湖梅梁湾水华微囊藻基因型组成和产毒微囊藻丰度的变化[J]. *湖泊科学*, 21(6): 801-805
- Shi L M, Cai Y F, Yang H L, *et al*. 2009. Dynamics of composition of different *Microcystis* spp. genotypes and abundance of toxic *Microcystis* in Meiliang Bay of Lake Taihu during bloom[J]. *Journal of Lake Sciences*, 21(6): 801-805 (in Chinese)
- Song L R, Chen W, Peng L, *et al*. 2007. Distribution and bioaccumulation of microcystins in water columns: a systematic investigation into the environmental fate and the risks associated with microcystins in Meiliang Bay, Lake Taihu[J]. *Water Res*, 41: 2853-2864
- 宋立荣, 陈伟. 2009 水华蓝藻产毒的生物学机制及毒素的环境归趋研究进展[J]. *湖泊科学*, 21(6): 749-757
- Song L R, Chen W. 2009 Production of microcystins in bloom-forming cyanobacteria and their environmental fates: a review[J]. *Journal of Lake Sciences*, 21(6): 749-757(in Chinese)
- 苏玉萍, 陈娜蓉, 林婉珍, 等. 2006 福建省山仔水库浮游植物特征与水体富营养状况分析[J]. *亚热带资源与环境学报*, 1(2): 49-51
- Su Y P, Chen N R, Lin W Z, *et al*. 2006 Analysis of phytoplankton characteristic and eutrophication in Shanzi Reservoir, Fujian Province[J]. *Journal of Subtropical Resources and Environment*, 1(2): 49-51(in Chinese)
- Wang J X, Xie P, Guo N C. 2007 Effects of nonylphenol on the growth and microcystin production of *Microcystis* strains[J]. *Environmental*

- Research, 103: 70-78
- 闫海, 潘纲, 张明明, 等. 2004 微囊藻毒素的提取和提纯研究 [J]. 环境科学学报, 24(2): 356-359
- Yan H, Pan G, Zhang M M, *et al*. 2004. Study on the extraction and purification of microcystins [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 24(2): 356-359 (in Chinese)
- 杨旭光, 李文奇, 周怀东, 等. 2007 河北 YH 水库不同季节中微囊藻毒素—LR 与 N、P 之间的关系 [J]. 湖泊科学, 19(2): 131-138
- Yang X G, Li W Q, Zhou H D, *et al*. 2007. Relationship between microcystin-LR, and N, P of water column in different seasons from a reservoir of Hebei Province [J]. Journal of Lake Sciences, 19(2): 131-138 (in Chinese)
- 俞顺章, 赵宁, 资小林, 等. 2001 饮水中微囊藻毒素与我国原发性肝癌关系的研究 [J]. 中华肿瘤杂志, 23(2): 96-99
- Yu S Z, Zhao N, Zi X L, *et al*. 2001. The relationship between cyanotoxin (Microcystin MC) in pond ditch water and primary liver cancer in China [J]. Chinese Journal of Oncology, 23(2): 96-99 (in Chinese)
- 张维昊, 宋立荣, 徐小清, 等. 2004 天然水体中微囊藻毒素归宿的初步研究 [J]. 长江流域资源与环境, 13(1): 85-88
- Zhang W H, Song L R, Xu X Q, *et al*. 2004. Primary research of the microcystin's fate in natural aquatic system [J]. Resources and Environmental in the Yangtze Basin, 13(1): 85-88 (in Chinese)
- 张杭君, 张建英, 陈英旭, 等. 2006 微囊藻毒素含量与自然水体环境影响因子的相关性 [J]. 环境科学, 27(10): 1969-1973
- Zhang H J, Zhang J Y, Chen Y X, *et al*. 2006. Research on microcystins in freshwaters with relation to environmental factors [J]. Environmental Science, 27(10): 1969-1973 (in Chinese)
- 郑和辉, 钱城, 邵兵, 等. 2007 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 [J]. 卫生研究, 36(1): 75-77
- Zheng H H, Qian C, Shao B, *et al*. 2007. Preliminary survey on water eutrophication and microcystins level in Beijing Miyun Reservoir [J]. Journal of Hygiene Research, 36(1): 75-77 (in Chinese)
- 郑力, 谢平, 林匡飞, 等. 2004 武汉莲花湖微囊藻毒素含量变化特征及其影响因素的研究 [J]. 农业环境科学学报, 23(6): 1053-1057
- Zheng L, Xie P, Lin K F, *et al*. 2004. Variation characteristics of microcystin concentration and influencing factors in Lake Lianhuahu (Wuhan) [J]. Journal of Agro-environmental Science, 23(6): 1053-1057 (in Chinese)
- 庄一廷. 2007 湖库型饮用水源地富营养化污染控制研究 [J]. 海峡科学, (6): 77-79
- Zhuang Y T. 2007. Research on the countermeasures of eutrophication of potable water resource [J]. Channel Science, (6): 77-79 (in Chinese)