

doi:10.11835/j.issn.2096-6717.2019.104



# 铜绿微囊藻衰亡过程中产甲烷动态 及关键影响因子

刘艺,许浩廉,毛羽丰,李宏,艾海男,何强

(重庆大学 三峡库区生态环境教育部重点实验室,重庆 400045)

**摘要:**为探究铜绿微囊藻水华自然衰亡和水华堆积区藻快速衰亡对 $\text{CH}_4$ 释放的影响,构建了室内模拟实验,研究了铜绿微囊藻自然衰亡和快速衰亡过程中水环境因子和 $\text{CH}_4$ 、 $\text{CO}_2$ 气体释放通量的变化。结果表明:高密度铜绿微囊藻衰亡中水环境因子和产气的变化遵循相似的时间模式,且衰亡对 $\text{CH}_4$ 和 $\text{CO}_2$ 的产生有显著的促进作用。自然衰亡和快速衰亡的 $\text{CH}_4$ 累积释放量分别为对照组的22.80倍和37.72倍, $\text{CO}_2$ 累积释放量分别为对照组的5.36倍和4.03倍。自然衰亡与快速衰亡的总碳(C)释放量差异不大,但快速衰亡释放的气体组分中 $\text{CH}_4$ 的占比是自然衰亡的1.86倍。相关性分析表明,溶解性有机碳(DOC)是铜绿微囊藻衰亡中影响 $\text{CH}_4$ 和 $\text{CO}_2$ 释放的主导因子,且DOC中的芳香蛋白类物质和溶解性微生物代谢产物是 $\text{CH}_4$ 和 $\text{CO}_2$ 产生的主要底物来源。

**关键词:**铜绿微囊藻;衰亡;甲烷;二氧化碳;藻源有机质

**中图分类号:**X524 **文献标志码:**A **文章编号:**2096-6717(2019)05-0132-09

## Methane-producing dynamics and key influencing factors during the decay of *Microcystis aeruginosa*

Liu Yi, Xu Haolian, Mao Yufeng, Li Hong, Ai Hainan, He Qiang

(Key Laboratory of the Three Gorges Reservoir Regions Eco-Environment, Ministry of Education, Chongqing University, Chongqing 400045, P. R. China)

**Abstract:** An experiment was conducted to evaluate the effect of natural and rapid decay of *Microcystis aeruginosa* bloom on the production of  $\text{CH}_4$ , and the variations of water environmental factors as well as the release fluxes of  $\text{CH}_4$  and  $\text{CO}_2$  were also explored. The results indicated that the dynamics of water environmental factors and gas production during the decay of dense *Microcystis aeruginosa* followed a similar temporal pattern, and algal decay significantly promoted the production of  $\text{CH}_4$  and  $\text{CO}_2$ . The  $\text{CH}_4$  cumulative release of natural decay and rapid decay were 22.80 and 37.72 times that of control group respectively, and the  $\text{CO}_2$  cumulative release of natural decay and rapid decay were 5.36 and 4.03 times that of control group respectively. There was little difference in total carbon (C) release between natural decay and rapid decay. However, the proportion of  $\text{CH}_4$  in the gas released from rapid decay was 1.86 times that

**收稿日期:**2018-12-25

**基金项目:**国家自然科学基金(51779020,51609024,51478061)

**作者简介:**刘艺(1994-),女,主要从事水体污染控制与修复技术研究,E-mail: chloe\_561@163.com。

何强(通信作者),男,博士,教授,E-mail: hq0980@126.com。

**Received:**2018-12-25

**Foundation item:** National Natural Science Foundation of China(No. 51779020,51609024,51478061)

**Author brief:** Liu Yi(1994-), main research interests: water pollution control and repair technology, E-mail: chloe\_561@163.com.

He Qiang(corresponding author), PhD, professor, E-mail: hq0980@126.com.

of natural decay. The correlation analysis revealed that dissolved organic carbon (DOC) was the dominant environmental factor affecting the release of  $\text{CH}_4$  and  $\text{CO}_2$ . Moreover, the aromatic protein and soluble microbial metabolites of DOC were the main substrates for  $\text{CH}_4$  and  $\text{CO}_2$  production.

**Keywords:** *Microcystis aeruginosa*; decay; methane; carbon dioxide; algal organic matter

湖泊生态系统是内陆水域中  $\text{CH}_4$  产生的源头之一,其  $\text{CH}_4$  释放量占到自然源  $\text{CH}_4$  释放总量的 16%~24%<sup>[1-3]</sup>。尤其在初级生产力较高的富营养化湖泊中, $\text{CH}_4$  和  $\text{CO}_2$  的释放量会显著增加<sup>[4-5]</sup>,可见,水华藻类衰亡对湖泊碳素释放的贡献不可忽视。

目前,对于水华藻类衰亡的研究主要集中在藻类衰亡对环境的影响<sup>[6-8]</sup>,以及由此带来的对沉积物物质释放<sup>[9]</sup>和水生植物生理生态<sup>[10-11]</sup>的影响。实际上,藻类衰亡在改变水环境条件的同时,势必会影响其中的碳代谢过程。West 等<sup>[12]</sup>对比了黑暗密闭条件下斜生栅藻和枫叶对温带湖泊产  $\text{CH}_4$  的影响,得出藻源有机质(AOM)比陆源有机质对水生系统产  $\text{CH}_4$  的促进作用更为显著。Grasset 等<sup>[13]</sup>研究了黑暗密闭条件下蓝绿藻和 3 种植物叶片对淡水沉积物产  $\text{CH}_4$  和  $\text{CO}_2$  的影响,发现蓝绿藻对产  $\text{CH}_4$  和  $\text{CO}_2$  的促进作用最强。以上研究均在黑暗密闭的条件下进行,为了更客观地反映藻类自然衰亡过程,Lenhart 等<sup>[14]</sup>通过室内试验模拟了自然光照下赫氏颗石藻的衰亡,得到赫氏颗石藻碳素对  $\text{CH}_4$  产生有贡献作用。Liang 等<sup>[15]</sup>通过室内试验发现,在自然条件下丝状藻衰亡能显著促进  $\text{CH}_4$  的释放。以上研究虽然模拟了藻类的自然衰亡,但较多地注重碳素释放的结果,对于水华藻类衰亡各阶段碳素释放的特点,藻华堆积区藻快速衰亡和自然衰亡过程中  $\text{CH}_4$  产生量的差异,以及环境因子和 AOM 各组分对产  $\text{CH}_4$  的贡献还鲜有报道。

以铜绿微囊藻为研究对象,通过室内模拟试验,研究高密度铜绿微囊藻自然衰亡和快速衰亡过程中产  $\text{CH}_4$  过程,以及影响  $\text{CH}_4$  和  $\text{CO}_2$  释放的主导环境因子,以期进一步认识铜绿微囊藻水华对湖泊碳行为的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

试验原水采集于重庆大学民主湖(29°34'00"N, 106°27'57"E),经 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜减压过滤,以去除原水中自带的藻类。在原水采集点采集深度小于 10 cm 的表层沉积物,混合均匀。

试验所用铜绿微囊藻(FACHB-905)购于中国

科学院武汉水生生物研究所。用 BG-11 培养基对藻种进行扩大培养,培养至稳定生长期的藻离心后用 15 mg/L 的  $\text{NaHCO}_3$  溶液洗涤,加入滤后原水配成藻类干密度为 0.70 g/L 的新鲜藻液<sup>[6]</sup>。采用细胞破碎仪(JY92-IIID,新芝)对新鲜藻液进行超声破碎处理,以模拟藻华堆积区藻的快速衰亡过程,超声在冰浴中进行,避免超声使蛋白等物质变性<sup>[16]</sup>。

### 1.2 实验装置及处理

藻类衰亡试验在 500 mL 血清瓶中进行,如图 1 所示。每瓶由 200 mL 沉积物、300 mL 藻液或滤后原水、125 mL 顶空组成。试验设置 3 组处理:新鲜藻组,模拟藻华的自然衰亡(含 300 mL 新鲜藻液);破碎藻组,模拟藻华的快速衰亡(含 300 mL 破碎藻液)、对照组(含 300 mL 滤后原水),各处理设置 3 个重复。

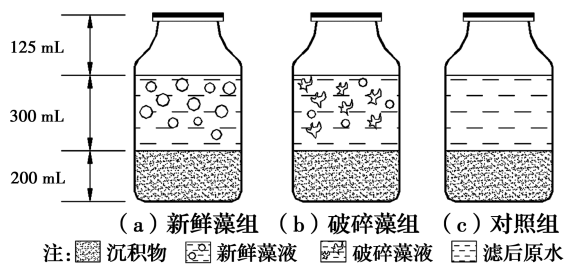


图 1 试验装置和处理组

Fig. 1 Experimental device and treatment group

血清瓶瓶口用无菌培养透气膜密封,沉积物四周用黑色遮光纸覆盖,避免光照的影响<sup>[17]</sup>,放置在恒温光照培养箱中,保持温度(25±1.5)°C,最高光照度 4 000 lx,光暗比 12 h:12 h。体系稳定 1 d 后开始试验。

试验持续 41 d,每隔 3~5 d 测定上覆水 pH、氧化还原电位(ORP)、溶解氧(DO)、叶绿素 a(Chl-a),同时测定当天  $\text{CH}_4$  和  $\text{CO}_2$  的释放通量。在第 1、7、21、41 d 测定 DOC 和溶解性有机质的三维荧光光谱(EEM)。

### 1.3 指标及测试方法

1.3.1 水环境指标的测定 pH 值用 pH 计(SevenCompact, METTLER)测定,ORP 用 ORP 复合电极(LE501, METTLER)测定,DO 用便携式溶

解氧仪(HQ40d, HACH)测定。Chl-a 采用丙酮提取法<sup>[18]</sup>测定。水样经滤膜过滤,用总有机碳分析仪(LiquiTOC-II, ELEMENTAR)测定 DOC 含量。EEM 采用荧光分光光度计(F-7000, HITACHI)测定,用荧光区域积分法(FIR)<sup>[19]</sup>进行定量分析。

1.3.2 CH<sub>4</sub> 和 CO<sub>2</sub> 的采集和测定 CH<sub>4</sub> 和 CO<sub>2</sub> 气体的采集和测定参考浮箱法<sup>[20]</sup>,用装有三通阀的瓶盖密封瓶口,用注射器通过三通阀抽取 30 mL 气体储存于采样袋中,间隔 1 h 后再次采气,CH<sub>4</sub> 和 CO<sub>2</sub> 气体的浓度用气相色谱仪(GC1690, 杭州捷岛)进行分析。气体释放通量  $F(\mu\text{molC}/(\text{m}^2 \cdot \text{h}))$  按式(1)计算。

$$F = \frac{(C_t - C_0)V + C_0V_s}{T \times A} \quad (1)$$

式中: $C_0$  为初次采样的气体浓度, $\mu\text{molC}/\text{L}$ ;  $C_t$  为  $t$  时刻采样的气体浓度, $\mu\text{molC}/\text{L}$ ;  $V$  为血清瓶顶空体积, $\text{L}$ ;  $V_s$  为气体采样体积, $\text{L}$ ;  $T$  为采样的时间间隔  $\text{h}$ ;  $A$  为水-气界面的表面积, $\text{m}^2$ 。

## 1.4 数据分析

水环境指标和气体指标之间的相关性用皮尔逊(Pearson)相关系数法进行分析,各处理组指标的显著性差异用单因素方差分析(one-way ANOVA)检验。Chl-a 衰减常数采用一阶指数衰减模型<sup>[21]</sup>进行拟合。

## 2 结果与讨论

### 2.1 铜绿微囊藻衰亡中水环境参数的变化

2.1.1 Chl-a 的变化 Chl-a 浓度是藻类生长和衰亡的标志<sup>[9]</sup>。如图 2 所示,加入藻液后,新鲜藻组和破碎藻组的 Chl-a 浓度分别达到了 8.59 mg/L 和 7.88 mg/L,远高于蓝藻水华暴发的阈值浓度<sup>[22]</sup>,模拟了高浓度铜绿微囊藻水华暴发的情况。反应前 4 d,加藻组的 Chl-a 降低速率最大,表明藻类在前 4 d 衰亡速度最快。反应 13 d 后,加藻组的 Chl-a 浓度与对照组一样维持在较低值,此时藻类基本完全衰亡。

新鲜藻组的 Chl-a 衰减常数为  $0.36 \text{ d}^{-1}$ ,破碎藻组为  $0.83 \text{ d}^{-1}$ ,表明经过超声处理后,快速衰亡的速率提高为自然衰亡的 2 倍以上。

2.1.2 ORP 的变化 如图 3(a)所示,对照组的 ORP 在整个试验中变化不大,维持在  $(134 \pm 34) \text{ mV}$ 。试验第 1 d,新鲜藻组和破碎藻组的 ORP 迅速

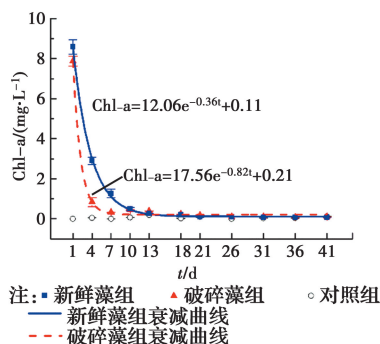


图2 铜绿微囊藻衰亡过程中 Chl-a 的变化

Fig. 2 Variations in Chl-a during the decay of

*Microcystis aeruginosa*

下降到 5 mV 和 -280 mV。第 4~10 d,加藻组的 ORP 呈下降趋势,在第 10 d 分别达到极低值 -183 mV 和 -190 mV。第 10~21 d,ORP 开始回升,并在第 31 d 后回升到与对照组相当的水平。

破碎藻组在第 1 d 的 ORP 显著低于新鲜藻组,藻快速衰亡释放出还原态物质可能是破碎藻组初始 ORP 极低的原因<sup>[10]</sup>。试验前 21 d,新鲜藻组的 ORP 始终高于破碎藻组,可能是新鲜藻组在缓慢衰亡过程中,存活的藻细胞光合作用释放出 O<sub>2</sub>,部分补偿了 DO 消耗导致的 ORP 下降。

2.1.3 DO 的变化 如图 3(b)所示,对照组的 DO 在整个试验中维持在  $(6.57 \pm 1.03) \text{ mg}/\text{L}$  的好氧状态。试验第 4~21 d,加藻组的 DO 均维持在 1 mg/L 以下的缺氧状态,显著低于对照组。尚丽霞等<sup>[8]</sup>在研究蓝藻分解中发现,高浓度藻液在 12 h 内就能由好氧转化为厌氧(DO < 0.5 mg/L)状态。吴婷婷等<sup>[10]</sup>在蓝藻堆积衰亡中也观察到 1 d 内 DO 快速降低到缺氧状态的现象。表明高浓度铜绿微囊藻衰亡会快速消耗水中 DO,致使水体由好氧转变为缺氧状态。第 21 d 后,由于 AOM 的消耗,DO 开始回升,并在 31 d 后上升到与对照组相当的水平。

与破碎藻组相比,新鲜藻组的 DO 在第 1 d 达到 16.93 mg/L 的超饱和状态,与罗宜富等<sup>[23]</sup>在调研阿哈水库藻类大量繁殖期水相 DO 浓度相似。试验 4~13 d,加藻组的 DO 均较低(DO < 0.52 mg/L)且相差不大。

2.1.4 pH 的变化 如图 3(c)所示,试验中对照组的 pH 维持在  $7.78 \pm 0.34$  的中性值附近。加藻后第 1 d,新鲜藻组的 pH 上升至 10.16,破碎藻组 pH 略微升高为 8.13。破碎藻组引起 pH 升高是由于铜绿微囊藻分解的 AOM 是弱碱性物质<sup>[24]</sup>,而新鲜藻

组初始 pH 显著高于破碎藻组则是大量新鲜铜绿微囊藻光合作用吸收  $\text{CO}_2$  释放  $\text{O}_2$  导致的<sup>[23]</sup>。第 4 d 后,微生物分解 AOM 产生了大量有机酸<sup>[10]</sup>,加藻组的 pH 均逐渐降低。13 d 后由于 AOM 的减少和  $\text{CO}_2$  的扩散消耗,pH 逐渐回升,并在 31 d 后上升到与对照组相当的水平。

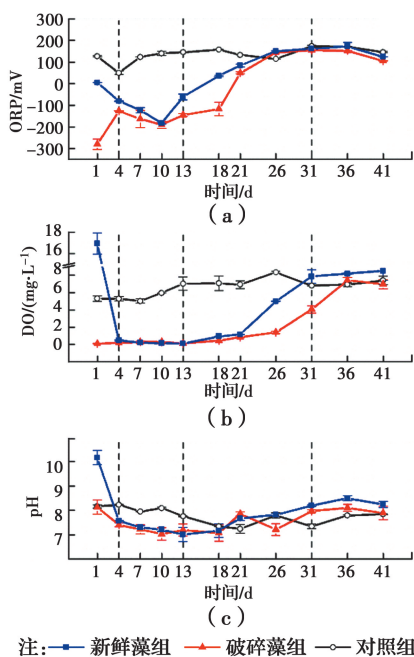


图 3 铜绿微囊藻衰亡过程中 ORP、DO 和 pH 的变化  
Fig. 3 Variations in ORP, DO and pH during the decay of *Microcystis aeruginosa*

在铜绿微囊藻衰亡过程中,ORP、DO、pH 的变化趋势表现出了时间上的一致性,结合 Chl-a 的变化,可将衰亡划分为 4 个时期:第 1~4 d 是鲜藻组和破碎藻组各指标差异最大的时期,为快速衰亡期;第 4~13 d 是加藻组与对照组各指标差异最大的时期,且 3 种水环境指标均随时间降低,为缓慢衰亡期;第 13~31 d 加藻组与对照组差异仍然显著,但 3 种指标随时间而逐渐回升,为完全衰亡前期;第 31~41 d 加藻组的 3 种指标恢复到与对照组相当的水平,为完全衰亡后期。

## 2.2 铜绿微囊藻衰亡中有机质的变化

测定第 1、7、21、41 d 的 DOC 浓度作为铜绿微囊藻衰亡各阶段的 DOC 代表值,如图 4 所示。对照组的 DOC 维持在较低水平,且呈缓慢下降的趋势。加藻组的 DOC 浓度是藻类衰亡溶出 AOM 和 AOM 被细菌分解两个过程综合作用的结果<sup>[25]</sup>。第 1 d,加藻组的 DOC 浓度显著高于对照组 ( $p < 0.05$ )。随着 AOM 不断溶出,加藻组的 DOC 显著升高,并

在第 7 d 达到最大值。随后由于细菌对 DOC 的分解大于 AOM 溶出对 DOC 的贡献,DOC 浓度快速降低。

破碎藻组 DOC 初始和峰值浓度均显著高于新鲜藻组,表明藻类快速衰亡促使 AOM 更快地释放到水中<sup>[26]</sup>。第 41 d,新鲜藻组的 DOC 最终降解量 (47.29 mg/L) 与破碎藻组 (47.77 mg/L) 相当。

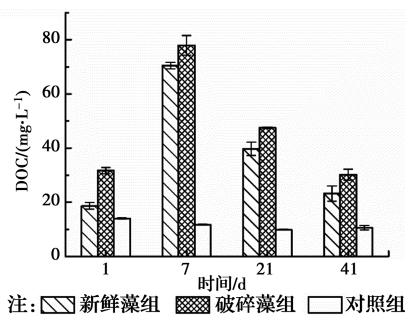


图 4 铜绿微囊藻衰亡过程中上覆水 DOC 浓度的变化  
Fig. 4 Variations in DOC concentration of overlying water during the decay of *Microcystis aeruginosa*

用特定区域标准化的百分荧光响应 ( $P_{i,n}$ ) 衡量 DOC 成分的相对变化,如图 5 所示。对照组的初始 DOC 成分以类富里酸 (区域 III) 和类腐殖酸 (区域 V) 为主,表明天然水体的腐殖化程度较高。与对照组相比,加藻组的初始芳香蛋白类物质 (区域 I、II) 和溶解性微生物代谢产物 (区域 IV) 占比明显较高,表明铜绿微囊藻衰亡释放到水体中的 AOM 主要是芳香蛋白类物质,包括酶、藻青蛋白、氨基酸等<sup>[27]</sup>。随着 AOM 的溶出,加藻组的芳香蛋白类物质和溶解性微生物代谢产物的占比不断增加,在第 7 d 达到最大值。第 7 d 后,对照组和加藻组的芳香蛋白类物质、溶解性微生物代谢产物的占比逐渐减少,类富里酸和类腐殖酸的占比逐渐增大,表明铜绿微囊藻衰亡释放的不稳定性蛋白类物质逐渐被分解转化为富里酸和腐殖酸等强稳定性有机物<sup>[24, 28-29]</sup>。

## 2.3 铜绿微囊藻衰亡中 $\text{CH}_4$ 和 $\text{CO}_2$ 气体的变化

2.3.1  $\text{CH}_4$  释放通量和累积释放量 如图 6(a) 所示,试验中对照组  $\text{CH}_4$  释放通量较低 ( $0.211 \pm 0.313$ )  $\mu\text{molC}/(\text{dm}^2 \cdot \text{d})$ 。第 1~4 d,加藻组的  $\text{CH}_4$  释放通量相对对照组有少量增加,但差异不明显。从第 7 d 开始,新鲜藻组和破碎藻组的  $\text{CH}_4$  释放通量快速增加,并在第 13 d 达到最大,分别为  $13.699 \mu\text{molC}/(\text{dm}^2 \cdot \text{d})$  和  $43.626 \mu\text{molC}/(\text{dm}^2 \cdot \text{d})$ 。第 13 d 后,加藻组的  $\text{CH}_4$  释放通量逐渐降低,并在第 31 d 降低到与对照组相当的水平。

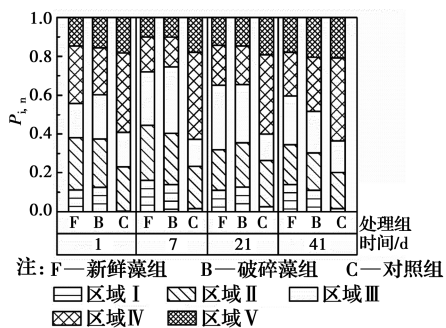


图5 铜绿微囊藻衰亡过程中DOC特定区域百分荧光响应( $P_{i,n}$ )的变化

Fig. 5 Variations in the percent fluorescence response ( $P_{i,n}$ ) in a specific region of DOC during the decay of *Microcystis aeruginosa*

从图6(b)的 $\text{CH}_4$ 累积释放量来看,新鲜藻组和破碎藻组的 $\text{CH}_4$ 累积释放量分别为对照组的22.80倍37.72倍,表明高密度铜绿微囊藻衰亡显著促进了系统 $\text{CH}_4$ 的释放。

2.3.2  $\text{CO}_2$ 释放通量和累积释放量 与 $\text{CH}_4$ 释放通量不同,对照组在试验过程中存在明显的 $\text{CO}_2$ 释放量( $5.229 \pm 4.983$ ) $\mu\text{molC}/(\text{dm}^2 \cdot \text{d})$ 。第1~4 d, 2个处理组的 $\text{CO}_2$ 释放通量均较低且无显著差异。从第7 d开始, $\text{CO}_2$ 释放通量均迅速增加,对照组在第13 d达到最大释放通量 $16.295 \mu\text{molC}/(\text{dm}^2 \cdot \text{d})$ 。新鲜藻组和破碎藻组分别在第10 d和第13 d达到最大释放通量,分别为 $98.686 \mu\text{molC}/(\text{dm}^2 \cdot \text{d})$ 和 $60.184 \mu\text{molC}/(\text{dm}^2 \cdot \text{d})$ ,显著高于对照组。第13 d后,3个处理组的 $\text{CO}_2$ 释放通量迅速降低,并在第31 d后降低到各自的最低值附近。

如图6(d)所示,新鲜藻组和破碎藻组的 $\text{CO}_2$ 累积释放量分别为对照组的5.36倍和4.03倍,表明高密度铜绿微囊藻衰亡在促进 $\text{CH}_4$ 释放的同时,也促进了 $\text{CO}_2$ 的生成和释放。

产气和水环境因子的变化遵循着相似的时间模式,根据 $\text{CH}_4$ 和 $\text{CO}_2$ 释放通量的变化,可将产气划分为4个时期:第1~4 d几乎没有气体产生为产气适应期;第4~13 d为产气上升期;第13~31 d为产气下降期;第31~41 d气体产生强度降低到较低的状态,为产气末期。

2.3.3 自然和快速衰亡中气体释放的差异 如图6(f)所示,加藻组的总C释放量显著高于对照组,但两加藻组之间差异不大,与两组第41 d的DOC降解量相当的结果一致,表明藻华堆积区藻的快速衰亡对碳素的总矿化效应几乎没有影响。

虽然加藻组在总C累积释放量上差异不大,但在气体释放的相对比例上存在显著差异。破碎藻组释放的气体中 $\text{CH}_4$ 的占比明显高于新鲜藻组,总C中27.49%是以 $\text{CH}_4$ 的形式释放的,而新鲜藻组释放的总C中 $\text{CH}_4$ 仅占14.74%。表明高密度铜绿微囊藻衰亡的不同过程可导致碳素归趋的差异。

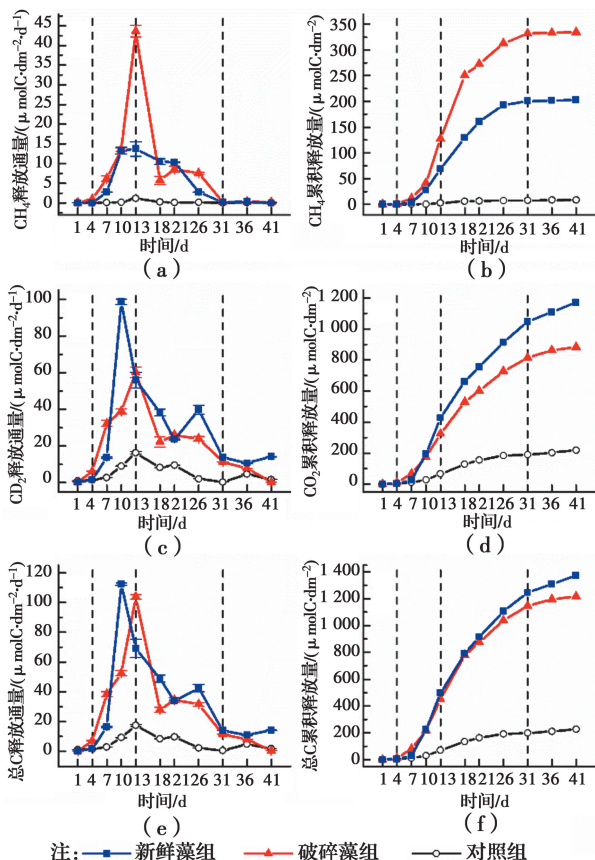


图6 铜绿微囊藻衰亡过程中 $\text{CH}_4$ 和 $\text{CO}_2$ 释放通量和累积释放量的变化

Fig. 6 Variations in release fluxes and cumulative release of  $\text{CH}_4$  and  $\text{CO}_2$  during the decay of *Microcystis aeruginosa*

作为生态系统呼吸作用的两种产物, $\text{CH}_4$ 和 $\text{CO}_2$ 之间的关系表现为,一方面 $\text{CO}_2$ 是还原 $\text{CO}_2$ 产甲烷途径的底物,也是乙酸途径和严格甲基营养型途径产甲烷过程中的副产物<sup>[30]</sup>;另一方面,甲烷氧化菌可以利用 $\text{CH}_4$ 作为碳源,将 $\text{CH}_4$ 氧化为 $\text{CO}_2$ 。 $\text{DO}$ 通常被认为是调控 $\text{CH}_4$ 在生态系统总呼吸作用中占比的主要因素<sup>[31]</sup>。但在第13 d,即破碎藻组的 $\text{CH}_4$ 释放通量与新鲜藻组差异最大时, $\text{DO}$ 不存在显著性差异( $p=0.148$ ),原因可能是在缺氧或厌氧环境下, $\text{DO}$ 仪往往无法发挥其作用<sup>[32]</sup>。与之相反,ORP在此时的差异显著( $p=0.005$ ),说明在高密度铜绿微囊藻衰亡过程中,ORP在调节 $\text{CH}_4$ 和 $\text{CO}_2$ 的分配上可能起到重要作用。

自然衰亡和快速衰亡下,CH<sub>4</sub> 和 CO<sub>2</sub> 气体占比不同还可能是前期塑造的细菌群落差异造成的。Shi 等<sup>[6]</sup>研究了水华蓝藻长期作用下水相细菌群落的动力学,发现蓝藻衰亡的不同阶段细菌种群结构有明显差异,在功能层面表现为与甲烷代谢有关的菌种在衰亡中逐渐增加。Schwarz 等<sup>[33]</sup>基于加藻后沉积物的 16s rRNA 的研究发现,加入藻源碳的处理组在培养 6 d 后细菌群落就出现了显著变化,其中,乙酸利用型产甲烷菌在加藻 6 d 后就有了增长,说明微生物群落对 AOM 可产生快速响应。由此推

测,藻华堆积区藻的快速衰亡使大量 AOM 在试验第 1 d 就释放出来,导致加藻组在快速衰亡期水环境因子出现显著差异,前期的环境差异使破碎藻组可能积累了较多的产甲烷菌,从而在产气时期释放出更多的 CH<sub>4</sub>。

## 2.4 影响碳素释放的主导环境因子

环境因子和气体释放通量的 Pearson 相关性如表 1 所示,除 Chl-a 与气体释放没有显著的相关性外,ORP、DO、pH、DOC 均是显著影响 CH<sub>4</sub> 和 CO<sub>2</sub> 释放通量的关键环境因子。

表 1 环境因子和气体释放通量的相关性分析

Table 1 Correlation analysis of environmental factors and gas release fluxes

项目	Chl-a	ORP	DO	pH	DOC	区域 I	区域 II	区域 III	区域 IV	区域 V	CH <sub>4</sub> 释放通量
CH <sub>4</sub> 释放通量	-0.118	-0.451**	-0.498**	-0.419**	0.614*	0.405	0.079	-0.616*	0.827**	-0.560	1
CO <sub>2</sub> 释放通量	-0.201	-0.441*	-0.516**	-0.475**	0.763**	0.495	0.203	-0.683*	0.840**	-0.640*	0.720**
总 C 释放通量	-0.189	-0.472**	-0.543**	-0.487**	0.747**	0.486	0.177	-0.686*	0.861**	-0.638*	0.847**

注: \* 代表相关性在 0.05 水平上显著; \*\* 代表相关性在 0.01 水平上显著。

Chl-a 与 CH<sub>4</sub> 和 CO<sub>2</sub> 的释放通量没有显著相关性,原因是气体释放的峰值强度往往出现在藻类衰亡释放出 AOM 之后<sup>[15]</sup>,而此时 Chl-a 已经降到低值。

ORP 是水中电子受体含量的综合反映,自然温度下产甲烷菌生长最适宜的 ORP 范围在 -350 ~ -300 mV<sup>[34]</sup>,一方面高浓度的电子受体会对产甲烷菌产生毒害作用,另一方面电子受体还原菌群会与产甲烷菌竞争底物。因此,末端电子受体(O<sub>2</sub>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、Mn<sup>4+</sup>、Fe<sup>3+</sup>、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)的耗尽是甲烷稳定产生的前提<sup>[35]</sup>。高浓度铜绿微囊藻通过堆积阻碍氧气扩散,衰亡释放的 AOM 消耗水体 DO 以及产生还原性物质等途径降低水体 ORP,为 CH<sub>4</sub> 产生创造条件。

O<sub>2</sub> 是还原产能最高的末端电子受体<sup>[31]</sup>,因此,DO 与 CH<sub>4</sub> 释放通量的相关性比 ORP 更大。产甲烷代谢中的辅酶因子和酶具有氧敏感性<sup>[36]</sup>,O<sub>2</sub> 的存在会对该类酶产生抑制作用,从而抑制 CH<sub>4</sub> 的产生。Borrel 等<sup>[36]</sup>指出,O<sub>2</sub> 浓度超过 10 ppm 甲烷产生会被完全抑制,而唐千等<sup>[2]</sup>研究表明,一般情况下 O<sub>2</sub> 浓度高于 0.7 mg/L 产甲烷菌活性就会被完全抑制,这与试验中新鲜藻组在第 26 d 时 DO 突然升高对应其 CH<sub>4</sub> 释放通量突然降低是一致的。此外,DO 还会促进好氧甲烷氧化过程,使生成的 CH<sub>4</sub> 被氧化为 H<sub>2</sub>O 和 CO<sub>2</sub>。在富营养化严重的河流中,高

浓度藻类衰亡在短时间内就能将水体由好氧状态转化为缺氧状态<sup>[8,10]</sup>,从而促进 CH<sub>4</sub> 的产生。

pH 对 CO<sub>2</sub> 释放通量的相关系数大于 CH<sub>4</sub>。一方面,在产气上升期,水体处于厌氧状态,AOM 被微生物厌氧分解为小分子有机酸<sup>[10]</sup>,致使 pH 降低的同时为 CH<sub>4</sub> 和 CO<sub>2</sub> 的产生提供了底物。另一方面,当温度一定时,pH 与水体二氧化碳分压(pCO<sub>2</sub>)存在指数函数关系<sup>[37]</sup>,而水相 pCO<sub>2</sub> 又与水气界面 CO<sub>2</sub> 通量存在函数关系( $F = k(C_{sur} - C_{eq})$ )<sup>[38]</sup>,因此,pH 在一定程度上直接反映了 CO<sub>2</sub> 释放通量的大小。

DOC 与 CH<sub>4</sub> 和 CO<sub>2</sub> 释放通量均有较显著的相关性( $p < 0.05$ )。Liang 等<sup>[15]</sup>在丝状藻衰亡产气试验中也发现 DOC 与 CH<sub>4</sub> 释放通量之间有很强的相关性( $r^2 = 0.70, p < 0.0001$ )。Stanley 等<sup>[31]</sup>在综合全球河流的数据后,也得到 DOC 与 CH<sub>4</sub> 浓度有显著线性相关性( $r^2 = 0.19, p < 0.001$ )的结论。AOM 为水生生态系统中微生物的呼吸和代谢提供了足够的底物,促进了 CH<sub>4</sub> 和 CO<sub>2</sub> 的释放。尽管加入的 AOM 可能对沉积物中有机质的矿化产生正向激发作用,但 Grasset 等<sup>[13]</sup>通过  $\delta^{13}C$  同位素分析表明,比起 AOM 作为底物对 CH<sub>4</sub> 的贡献,沉积物的正向激发可以忽略不计。此外,CH<sub>4</sub> 和 CO<sub>2</sub> 的释放通量与区域 I、II 和 IV 的占比成正相关,表明在 AOM 组分中,芳香蛋白类物质和溶解性微生物代谢产物易

被微生物分解,对气体的产生具有促进作用。其中,溶解性微生物代谢产物对两种气体释放的促进作用最大。相反,CO<sub>2</sub>和CH<sub>4</sub>的释放通量与区域III和V的占比成负相关,一方面因为类富里酸和类腐殖酸成分通常被认为是顽固性组分,较难被微生物利用<sup>[24]</sup>;另一方面部分腐殖酸还会对CH<sub>4</sub>的产生有抑制作用<sup>[39]</sup>。

铜绿微囊藻衰亡中,DOC与CH<sub>4</sub>和CO<sub>2</sub>释放通量的相关性最大,结合藻类衰亡过程中环境因子的变化,可以推测出铜绿微囊藻衰亡促进碳素释放的机理:高密度铜绿微囊藻在衰亡中释放出大量新鲜有机物,这些有机物中的不稳定组分为微生物提供了底物,促进其分解代谢释放出CH<sub>4</sub>和CO<sub>2</sub>。尤其对于CH<sub>4</sub>的产生而言,释放出的有机物不仅提供了解底物,还通过增加水中还原物质含量和促进需氧型微生物代谢的途径降低ORP和DO,为CH<sub>4</sub>的产生创造了合适的厌氧环境。

### 3 结论

1)高密度铜绿微囊藻自然衰亡和快速衰亡中Chl-a、水环境因子和产气的变化遵循着相似的时间模式。藻的衰亡可划分为:快速衰亡期(1~4 d)、缓慢衰亡期(4~13 d)、完全衰亡前期(13~31 d)、完全衰亡后期(31~41 d),产气阶段与之对应。

2)AOM的输入可增加试验体系的CH<sub>4</sub>产量。铜绿微囊藻自然衰亡和快速衰亡下CH<sub>4</sub>累积释放量分别为对照组的22.80、37.72倍,CO<sub>2</sub>的累积释放量分别为对照组的5.36、4.03倍。

3)铜绿微囊藻自然衰亡和快速衰亡过程中总C释放量无明显差异,但快速衰亡下AOM的迅速释放显著改变了藻源碳素的归趋。表现为快速衰亡下释放的气体组分中CH<sub>4</sub>的占比是自然衰亡下的1.86倍,且总C中27.49%是以CH<sub>4</sub>的形式释放的,而自然衰亡释放的总C中CH<sub>4</sub>仅占14.74%。

4)铜绿微囊藻的衰亡显著增加了水体中的藻源碳素,提升了微生物产CH<sub>4</sub>和CO<sub>2</sub>代谢的底物,并为产CH<sub>4</sub>微生物创造了合适的厌氧环境,使得DOC成为影响CH<sub>4</sub>和CO<sub>2</sub>释放的主导环境因子。在DOC组分中,芳香蛋白类物质和溶解性微生物代谢产物是CH<sub>4</sub>和CO<sub>2</sub>产生的主要底物来源。

### 参考文献:

[1] 吴庆龙,邢鹏,李化炳,等. 草藻型稳态转换对湖泊微

生物结构及其碳循环功能的影响[J]. 微生物学通报, 2013, 40(1): 87-97.

WU Q L, XING P, LI H B, et al. Impacts of regime shift between phytoplankton and macrophyte on the microbial community structure and its carbon cycling in lakes [J]. Microbiology, 2013, 40 (1): 87-97. (in Chinese)

[2] 唐千,薛校风,王惠,等. 湖泊生态系统产甲烷与甲烷氧化微生物研究进展[J]. 湖泊科学, 2018, 30(3): 597-610.

TANG Q, XUE X F, WANG H, et al. New knowledge of methanogens and methanotrophs in lake ecosystems [J]. Journal of Lake Sciences, 2018, 30 (3): 597-610. (in Chinese)

[3] SAMAD M S, BERTILSSON S. Seasonal variation in abundance and diversity of bacterial methanotrophs in five temperate lakes [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1-12.

[4] DEEMER B R, HARRISON J A, LI S, et al. Greenhouse gas emissions from reservoir water surfaces: A new global synthesis [J]. BioScience, 2016, 66(11): 949-964.

[5] DAVIDSON T A, AUDET J, SVENNING J C, et al. Eutrophication effects on greenhouse gas fluxes from shallow-lake mesocosms override those of climate warming [J]. Global Change Biology, 2015, 21(12): 4449-4463.

[6] SHI L M, HUANG Y X, ZHANG M, et al. Bacterial community dynamics and functional variation during the long-term decomposition of cyanobacterial blooms in vitro [J]. Science of the Total Environment, 2017, 598: 77-86.

[7] LEE Y, LEE B, HUR J, et al. Biodegradability of algal-derived organic matter in a large artificial lake by using stable isotope tracers [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(9): 8358-8366.

[8] 尚丽霞,柯凡,李文朝,等. 高密度蓝藻厌氧分解过程与污染物释放实验研究[J]. 湖泊科学, 2013, 25(1): 47-54.

SHANG L X, KE F, LI W C, et al. Laboratory research on the contaminants release during the anaerobic decomposition of high-density cyanobacteria [J]. Journal of Lake Sciences, 2013, 25(1): 47-54. (in Chinese)

[9] 朱梦圆,朱广伟,王永平,等. 太湖蓝藻水华衰亡对沉积物氮、磷释放的影响[J]. 环境科学, 2011, 32(2): 409-415.

ZHU M Y, ZHU G W, WANG Y P, et al. Influence

- of scum of algal bloom on the release of N and P from sediments of Lake Taihu [J]. Chinese Journal of Environmental Science, 2011, 32 (2): 409-415. (in Chinese)
- [10] 吴婷婷, 刘国锋, 韩士群, 等. 蓝藻水华聚集对水葫芦生理生态的影响 [J]. 环境科学, 2015, 36 (1): 114-120.  
WU T T, LIU G F, HAN S Q, et al. Impacts of algal blooms accumulation on physiological ecology of water hyacinth [J]. Environmental Science, 2015, 36 (1): 114-120. (in Chinese)
- [11] 刘丽贞, 秦伯强, 朱广伟, 等. 太湖蓝藻死亡腐烂产物对狐尾藻和水质的影响 [J]. 生态学报, 2012 (10): 3154-3159.  
LIU L Z, QIN B Q, ZHU G W, et al. Effect of decomposition products of cyanobacteria on myriophyllum spicatum and water quality in Lake Taihu, China [J]. Acta Ecologica Sinica, 2012 (10): 3154-3159. (in Chinese)
- [12] WEST W E, COLOSO J J, JONES S E. Effects of algal and terrestrial carbon on methane production rates and methanogen community structure in a temperate lake sediment [J]. Freshwater Biology, 2012, 57(5): 949-955.
- [13] GRASSET C, MENDONCA R, VILLAMOR S G, et al. Large but variable methane production in anoxic freshwater sediment upon addition of allochthonous and autochthonous organic matter [J]. Limnology and Oceanography, 2018, 63(4): 1488-1501.
- [14] LENHART K, KLINTZSCH T, LANGER G, et al. Evidence for methane production by the marine algae *Emiliania huxleyi* [J]. Biogeosciences, 2016, 13(10): 3163-3174.
- [15] LIANG X, ZHANG X, SUN Q, et al. The role of filamentous algae *Spirogyra* spp. in methane production and emissions in streams [J]. Aquatic Sciences, 2016, 78(2): 227-239.
- [16] DENG X, CHENG J, HU X, et al. Biological effects of TiO<sub>2</sub> and CeO<sub>2</sub> nanoparticles on the growth, photosynthetic activity, and cellular components of a marine diatom *Phaeodactylum tricorutum* [J]. Science of the Total Environment, 2017, 575: 87-96.
- [17] SZABO S, SCHEFFER M, ROIJACKERS R, et al. Strong growth limitation of a floating plant (*Lemna gibba*) by the submerged macrophyte (*Elodea nuttallii*) under laboratory conditions [J]. Freshwater Biology, 2010, 55(3): 681-690.
- [18] APARICIO F L, NIETO-CID M, CALVO E, et al. Wind-induced changes in the dynamics of fluorescent organic matter in the coastal NW Mediterranean [J]. Science of The Total Environment, 2017, 609: 1001-1012.
- [19] CHEN W, WESTERHOFF P, LEENHEER J A, et al. Fluorescence excitation-emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter [J]. Environmental Science & Technology, 2003, 37(24): 5701-5710.
- [20] 龙丽, 肖尚斌, 张成, 等. 亚热带浅水池塘水-气界面甲烷通量特征 [J]. 环境科学, 2016(12): 4552-4559.  
LONG L, XIAO S B, ZHANG C, et al. Characteristics of methane flux across the water-air interface in subtropical shallow ponds [J]. Environmental Science, 2016 (12): 4552-4559. (in Chinese)
- [21] LØNBORG C, DAVIDSON K, álvarez SALGADO X A, et al. Bioavailability and bacterial degradation rates of dissolved organic matter in a temperate coastal area during an annual cycle [J]. Marine Chemistry, 2009, 113(3-4): 219-226.
- [22] 田泽斌, 刘德富, 杨正健, 等. 三峡水库香溪河库湾夏季蓝藻水华成因研究 [J]. 中国环境科学, 2012(11): 2083-2089.  
TIAN Z B, LIU D F, YANG Z J, et al. Cyanobacterial bloom in Xiangxi Bay, Three Gorges Reservoir [J]. China Environmental Science, 2012 (11): 2083-2089. (in Chinese)
- [23] 罗宜富, 李磊, 李秋华, 等. 阿哈水库叶绿素 a 时空分布特征及其与藻类、环境因子的关系 [J]. 环境科学, 2017(10): 4151-4159.  
LUO Y F, LI L, LI Q H, et al. Spatial and temporal distribution of Chlorophyll a and its relationship to algae and environmental factors in Aha Reservoir [J]. Environmental Science, 2017 (10): 4151-4159. (in Chinese)
- [24] 姚昕, 张运林, 朱广伟, 等. 湖泊草、藻来源溶解性有机质及其微生物降解的差异 [J]. 环境科学学报, 2014 (3): 688-694.  
YAO X, ZHANG Y L, ZHU G W, et al. Different degradation mechanism of dissolved organic matter derived from phytoplankton and macrophytes in Lake Taihu, China [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2014 (3): 688-694. (in Chinese)
- [25] HANAMACHI Y, HAMA T, YANAI T. Decomposition process of organic matter derived from



- freshwater phytoplankton[J]. *Limnology*, 2008, 9(1): 57-69.
- [26] LIU C, WANG J, CAO Z, et al. Variation of dissolved organic nitrogen concentration during the ultrasonic pretreatment to *Microcystis aeruginosa* [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2016, 29: 236-243.
- [27] 欧桦瑟, 高乃云, 郭建伟, 等. 氯化化和 UVC 灭活铜绿微囊藻的机理[J]. *华南理工大学学报(自然科学版)*, 2011, 39(6): 100-105.
- OU H S, GAO N Y, GUO J W, et al. Inactivation mechanism of *microcystis aeruginosa* by chlorination and UVC irradiation [J]. *Journal of South China University of Technology (Natural Science Edition)*, 2011, 39(6): 100-105. (in Chinese)
- [28] 古励, 郭显强, 丁昌龙, 等. 藻源型溶解性有机氮的产生及不同时期藻类有机物的特性[J]. *中国环境科学*, 2015, 35(9): 2745-2753.
- GU L, GUO X Q, DING C L, et al. Formation of algae-derived DON and characterization of algae organic matter (AOM) from different stages [J]. *China Environmental Science*, 2015, 35(9): 2745-2753. (in Chinese)
- [29] 任保卫, 赵卫红, 王江涛, 等. 胶州湾围隔实验中溶解有机物三维荧光特征[J]. *环境科学*, 2007, 28(4): 712-718.
- REN B W, ZHAO W H, WANG J T, et al. Three-dimensional fluorescence characteristic of dissolved organic matter in Marine mesocosm experiment in Jiaozhou bay, China [J]. *Environmental Science*, 2007, 28(4): 712-718. (in Chinese)
- [30] 方晓瑜, 李家宝, 芮俊鹏, 等. 产甲烷生化代谢途径研究进展[J]. *应用与环境生物学报*, 2015, 21(1): 1-9.
- FANG X Y, LI J B, RUI J P, et al. Research progress in biochemical pathways of methanogenesis [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2015, 21(1): 1-9. (in Chinese)
- [31] STANLEY E H, CASSON N J, CHRISTEL S T, et al. The ecology of methane in streams and rivers: patterns, controls, and global significance [J]. *Ecological Monographs*, 2016, 86(2): 146-171.
- [32] 陈韬, 彭永臻, 田文军, 等. ORP 检测在水处理中的应用[J]. *中国给水排水*, 2003, 19(5): 20-22.
- CHEN T, PENG Y Z, TIAN W J, et al. Application of ORP measurements in water treatment [J]. *China Water & Wastewater*, 2003, 19(5): 20-22. (in Chinese)
- [33] SCHWARZ J I K, ECKERT W, CONRAD R. Response of the methanogenic microbial community of a profundal lake sediment (Lake Kinneret, Israel) to algal deposition [J]. *Limnology and Oceanography*, 2008, 53(1): 113-121.
- [34] 林代炎, 林新坚, 杨菁, 等. 产甲烷菌在厌氧消化中的应用研究进展[J]. *福建农业学报*, 2008, 23(1): 106-110.
- LIN D Y, LIN X J, YANG J, et al. Advance in utilization of methanobacteria for anaerobic digestion studies [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2008, 23(1): 106-110. (in Chinese)
- [35] 王维奇, 曾从盛, 全川, 等. 控制湿地甲烷产生的主要电子受体研究进展[J]. *地理科学*, 2009, 29(2): 300-306.
- WANG W Q, ZENG C S, TONG C, et al. Reviews on electron acceptors of controlling methane production from wetlands [J]. *Scientia Geographica Sinica*, 2009, 29(2): 300-306. (in Chinese)
- [36] BORREL G, JéZéQUEL D, BIDERRE-PETIT C, et al. Production and consumption of methane in freshwater lake ecosystems [J]. *Research in Microbiology*, 2011, 162(9): 832-847.
- [37] LI S Y, LU X X, BUSH R T. CO<sub>2</sub> partial pressure and CO<sub>2</sub> emission in the Lower Mekong River [J]. *Journal of Hydrology*, 2013, 504: 40-56.
- [38] COLE J J, BADE D L, BASTVIKEN D, et al. Multiple approaches to estimating air-water gas exchange in small lakes [J]. *Limnology and Oceanography: Methods*, 2010, 8(6): 285-293.
- [39] MINDERLEIN S, BLODAU C. Humic-rich peat extracts inhibit sulfate reduction, methanogenesis, and anaerobic respiration but not acetogenesis in peat soils of a temperate bog [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(12): 2078-2086.