

研究报告

不同外源条件对 4 种白腐真菌溶藻效果的影响

唐黎 何兴兵* 林永慧 宋元元 王恬

(吉首大学 生物资源与环境科学学院 湖南 吉首 416000)

摘要:【目的】评价白腐真菌 *Irpex lacteus* XX-5、*Trichaptum abietinum* 1302BG、*Ceriporia lacerata* P2、*Bjerkandera adusta* XX-2 处理铜绿微囊藻废水的应用潜力。【方法】采用分批次实验研究 pH、温度、铜绿微囊藻浓度、金属离子、氮源、磷源对白腐真菌 *I. lacteus* XX-5、*T. abietinum* 1302BG、*C. lacerata* P2、*B. adusta* XX-2 溶解铜绿微囊藻的影响。【结果】在不同外源条件下, 4 种白腐真菌对铜绿微囊藻的抑制效果明显, 均达 60% 以上。菌株 *C. lacerata* P2 和 *B. adusta* XX-2 受外源条件的影响很小, 菌株 *C. lacerata* P2 的抑制率达 70% 以上, 菌株 *B. adusta* XX-2 的抑制率达 60% 以上; 菌株 *T. abietinum* 1302BG、*I. lacteus* XX-5 在不同外源条件下抑制率均会发生相应的变化, 但抑藻率均可达 60% 以上。【结论】研究所使用的 4 种白腐真菌对抑制铜绿微囊藻具有较好的应用潜力, 尤其是菌株 *C. lacerata* P2 和 *B. adusta* XX-2。

关键词: 白腐真菌, 铜绿微囊藻, 溶藻, 抑制率

Algicidal effect of four kinds of white-rot fungi on *Microcystis aeruginosa* under different exogenous conditions

TANG Li HE Xing-Bing* LIN Yong-Hui SONG Yuan-Yuan WANG Tian

(College of Biology and Environmental Sciences, Jishou University, Jishou, Hunan 416000, China)

Abstract: [Objective] In order to evaluate the application potential of white-rot fungi *Irpex lacteus* XX-5, *Trichaptum abietinum* 1302BG, *Ceriporia lacerata* P2 and *Bjerkandera adusta* XX-2 in treating *Microcystis aeruginosa*. [Methods] Batch experiments were carried out to study the effect of pH, temperature, concentration of *M. aeruginosa*, metal ions, nitrogen source and phosphorus source on inhibition of *M. aeruginosa* by whiter-rot fungi. [Results] The results showed that under different exogenous conditions, four white fungi all showed good inhibition effect, achieving 60% of inhibiting rate. *C. lacerata* P2 and *B. adusta* XX-2 strains were less effected by environmental factors, and the inhibiting rates of both strains were over 70% and 60% respectively. The algal inhibiting rate of *T. abietinum* 1302BG and *I. lacteus* XX-5 could be slightly affected by experimental factors, however the inhibiting rates were still over 60%. [Conclusion] Therefore, the four white-rot fungi, especially for *C. lacerata* P2 and *B. adusta* XX-2, had a good potential for inhibiting *M. aeruginosa*.

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31100370, 31360135); 湖南省自然科学基金项目(No. 13JJ092); 湖南省高校重点实验室平台开放基金项目(No. 12K107)

*通讯作者: Tel: 86-743-8564416; ✉: hexb@jsu.edu.cn, hexb2004@163.com

收稿日期: 2014-07-03; 接受日期: 2014-10-13; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-10-15

Keywords: White-rot fungi, *Microcystis aeruginosa*, Algicidal effect, Inhibiting rate

目前, 水体富营养化已经演变成全球严重的水体环境污染问题之一。随着 N、P 等营养物质大量排入水体, 最终导致水体严重富营养化。水体富营养化过程中, 最常见的就是藻类暴发。铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)是一种出现在淡水中的蓝绿藻, 是导致水华的优势藻类之一^[1], 具有一定的生态学与经济重要性。铜绿微囊藻不仅暴发频繁, 而且容易产生毒素^[2-4], 其毒素如肽(肝毒素)^[5]、生物碱(神经毒素)和脂多糖(皮炎毒素)等^[6], 会引起一些水生和陆生生物中毒, 并通过食物链作用, 危害人类身体健康; 藻细胞在降解后, 仍会对水体释放毒素, 继续对水体产生污染; 除了毒素外, 微囊藻形成藻华时淡水溶氧量的显著降低也会导致水中动物的死亡^[7]。

近年来, 利用物理、化学等方法来治理水华, 却没有一种比较完善有效的技术。传统的理化方法需要昂贵的专业设备并消耗大量的能源, 而且容易造成二次污染, 生物处理则具有能耗低, 造作简单及不污染环境的优点。因此, 研究一种价格低廉、经济实用的生物技术治理水华势在必行。目前, 用微生物法处理铜绿微囊藻主要集中于对溶藻细菌的研究。溶藻细菌对消除铜绿微囊藻具有一定成效^[8-10], 但是某些溶藻细菌在抑制藻类繁殖的同时, 也可能会利用营养物质形成菌胶膜, 致使气体交换和光线投射受阻, 最终导致水体环境恶化^[11]。而且细菌在水体中难以形成群体优势, 也不容易找到形成优势群体的附着载体, 因而在与水环境中的当地菌群竞争时就难以存活下来。

而大多数丝状真菌由于其发达的菌丝而成膜性能好, 容易形成群体优势, 从而增强了与当地菌群竞争的能力而容易存活下来并发挥其净水能力。其中, 白腐真菌(White-rot fungi)在水体净化方面的应用尤为突出。白腐真菌是一种能够引起木材白色腐朽的担子菌, 具有非专一性、广谱^[12]、高效、低耗、应用性强, 能对各种有毒、难降解、宿存于环

境中的异生生物具有明显的生物降解能力。目前主要是利用白腐真菌自身产生的胞外酶——木质素过氧化物酶(LiP)、锰过氧化物酶(MnP)和漆酶(Lac)通过一系列的自由基链式反应来实现对复杂有机物的降解^[13]。以往有关白腐真菌应用于环境处理的研究均集中于对人造污染物的降解方面, 如水体含酚废水处理^[14], 土壤吡啶乙酸污染和原油污染修复^[15-16]等, 而很少有研究显示白腐真菌也能应用于活体微囊藻的消除。本研究所选择的菌株 *Irpex lacteus* XX-5^[17]、*Trichaptum abietinum* 1302BG^[18]、*Ceriporia lacerata* P2^[19]、*Bjerkandera adusta* XX-2^[20]均为白腐真菌, 它们对孔雀石绿、刚果红、橙黄 G 等有机染料废水具有良好的降解效果, 有些菌株在染料毒性消除方面也表现出较强的能力, 显示这些菌株在染料废水处理方面的应用潜力。但到目前为止, 类似于这些菌株的白腐真菌却极少应用于活体微囊藻的消除, 本研究应用该 4 种菌株对活体铜绿微囊藻进行溶藻研究, 探讨环境因子对菌株溶藻效果的影响, 分析其溶藻潜力, 并通过红外光谱扫描对铜绿微囊藻的溶藻过程进行初步探讨, 为富营养化水体微囊藻的控制和治理提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 受试菌株和藻种: 白腐真菌菌株 *Irpex lacteus* XX-5、*Trichaptum abietinum* 1302BG、*Ceriporia lacerata* P2、*Bjerkandera adusta* XX-2 由吉首大学生物资源与环境科学学院环境微生物实验室提供。铜绿微囊藻(*M. aeruginosa*)来源于南京大学生命科学院植物实验室。实验中所用藻浓度为 2.0×10^6 cells/mL, 置于 30 °C 恒温箱中储存备用。

1.1.2 培养基: PDA 培养基(g/L): 土豆浸出液 200 mL, 葡萄糖 20.0, 琼脂 20.0, 用于白腐真菌的保存。虎红培养基(g/L): 孟加拉红 35.0, 1 L 蒸馏水, 1×10^5 Pa 灭菌 25 min, 用于白腐真菌的活化培养。PDB 培养基(g/L): 土豆浸出液 200 mL,

葡萄糖 20.0, 用于白腐真菌菌膜的培养。BG-11 培养基(g/L): NaNO_3 1.500, K_2HPO_4 0.040, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.075, $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.036, Na_2CO_3 0.020, 柠檬酸 0.006, 柠檬酸铁 0.006, 微量元素溶液 A_5 1.0 mL, EDTA 0.001, 蒸馏水 1 L, 用于铜绿微囊藻的培养。微量元素混合溶液 A_5 (g/L): H_3BO_4 2.860, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.810, ZnSO_4 0.222, Na_2MoO_4 0.390, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.079, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.490。

1.1.3 实验仪器与设备: 微电脑光照培养箱 (SPX-250I-G), 上海博讯实业有限公司; 离心机 (LDZ-2), 北京医用离心机厂; 紫外-可见分光光度计 (T6 新世纪), 北京普析通用仪器有限责任公司; 傅里叶红外光谱仪, FTIR-8201IPC SHIMADZU 等。

1.2 实验方法

1.2.1 灭菌: 在微囊藻和菌膜培养的实验中, 对相关的容器、用具和实验用水等必需进行灭菌处理, 保证藻种单一以及防止滋生其他的原生生物对培养不利导致实验失败。根据灭菌对象不同, 主要采用高压湿热灭菌、灼烧灭菌、紫外线灭菌等方法。

1.2.2 菌膜培养: 将保存在试管中 PDA 培养基中的菌株 *I. lacteus* XX-5、*T. abietinum* 1302BG、*C. lacerata* P2、*B. adusta* XX-2 接种于培养皿中虎红培养基上进行活化, 将活化后的菌株接种于装有 50.0 mL PDB 培养基的 150.0 mL 锥形瓶中, 28 °C 恒温摇瓶培养 5 d; 形成菌丝球, 用灭菌玻璃棒将摇瓶中菌丝球充分打碎, 用移液枪吸取 1.0 mL 接种于装有 20.0 mL 液体 PDA 培养基的直径为 9.0 cm 的平板中。28 °C 恒温静置培养 5–7 d, 得到实验所需菌膜。

1.2.3 环境因子对铜绿微囊藻溶藻效果的影响: 分不同批次研究 pH、温度、藻体浓度、金属离子、氮磷源分别对白腐真菌 *I. lacteus* XX-5、*T. abietinum* 1302BG、*C. lacerata* P2、*B. adusta* XX-2 溶藻能力的影响。取混匀的微囊藻 50.0 mL 加入至 150 mL 锥形瓶中(铜绿微囊藻溶液浓度为 2.0×10^6 cells/mL), 并加入培养好的菌膜, 开始溶藻过程, 连续 5 d, 每 24 h 取样一次, 测定叶绿素-a 含量。以不加菌膜的

处理为空白对照, 测定指标同加菌膜处理。培养温度为 25 °C, 静置光照培养, 在 120 r/min 条件下, 每隔 24 h 于摇床中摇动 30 min。叶绿素-a 提取使用 90%丙酮溶液, 所有实验设置 3 个重复。

1.2.4 溶藻能力的测定: (1) 叶绿素-a 含量的测定: 根据 Jeffrey 等^[21]的方法, 取一定体积(mL)藻溶液过滤, 藻体富集在孔径为 0.45 μm 的乙酸纤维素脂滤膜上, 将滤膜放进 10 mL 离心管后加入 5.0 mL 90%丙酮溶液, 4 °C 避光提取 24 h 摇匀后在 3 000 r/min 下离心 5 min 取上清溶液。以 90%丙酮作空白对照, 在波长为 664 nm 和 630 nm 处测定吸光度值。

利用以下公式计算叶绿素-a 含量:

$$\text{Chla (mg/L)} = 5 \times (11.47 \times OD_{664} - 0.4 \times OD_{630}) / V_{\text{藻液体积}}$$

按以下公式计算抑制率:

$$R = (1 - N/N_0) \times 100\%$$

式中 N_0 为对照组的参数, N 为实验组的参数。

(2) 藻密度测定: 采用分光光度法和细胞计数法。

(3) 对溶藻后的液体进行红外扫描以定性确定产生的代谢产物。红外光谱测定: 将单独培养基、培养基+铜绿微囊藻、培养基+铜绿微囊藻+白腐真菌(*B. adusta* XX-2、*I. lacteus* XX-5、*T. abietinum* 1302BG、*C. lacerata* P2)菌膜(去掉菌膜)烘干后按 1:100 与 KBr 混匀后, 用玛瑙研钵细研, 并在波数范围为 400–4 000 cm^{-1} 、分辨率为 4 cm^{-1} 、扫描次数为 16 的条件下进行红外光谱扫描。

1.2.5 数据处理: 数据表示为样本平均数 \pm 标准误。通过单因素方差分析及 Duncan 的多重比较检验分析处理间的差异显著, 数据分析之前进行方差齐性检验。所有测验的差异显著性设置成 $P < 0.05$, 以上分析用 SPSS 13.0。

2 结果与讨论

2.1 不同 pH 对 *I. lacteus* XX-5、*T. abietinum* 1302BG、*C. lacerata* P2、*B. adusta* XX-2 抑制铜绿微囊藻效果的影响

pH 值对白腐真菌菌体的生长繁殖有着重要的作用。不同的 pH 值会影响微生物细胞膜所带电荷的性质, 导致细胞膜的通透性发生变化, 从而影响

微生物对生长物质的吸收以及代谢物的排泄,合适的 pH 可以有效地提高白腐真菌对铜绿微囊藻的抑制率。不同 pH 下 4 种白腐真菌分别对铜绿微囊藻的抑制效果见图 1。

5 d 后,菌株 *I. lacteus* XX-5 对铜绿微囊藻的抑制率由高到低顺序为: pH 6.0>pH 10.0>pH 8.0>pH 4.0 ($P<0.05$), pH 6.0 时,对铜绿微囊藻的抑制效果明显,抑制率达到 80%以上, pH 4.0 条件下抑制率明显偏低,最大抑制率仅为 48.1%。菌株 *T. abietinum* 1302BG 在前 4 天的溶藻过程中,不同 pH 环境下对铜绿微囊藻的抑制率具有一定差异, pH 6.0 时对铜绿微囊藻的抑制率略高于其他 3 个 pH; 菌株 *C. lacerata* XX-2 和 *B. adusta* P2 在 5 d 的溶藻过程中抑制率随时间呈递增趋势,两菌株在溶藻第 1 天时,抑制率均达 40%以上,第 5 天时抑制率均达 70%以上。研究表明很多数白腐真菌适宜偏弱酸环境^[22],而铜绿微囊藻则偏好弱碱性水体^[23],而本研究菌株 *I. lacteus* XX-5 和 *T. abietinum* 1302BG 在偏弱酸环境中也正好表现出较为明显藻类抑制,但当 pH 进一步降低时其抑藻能力则明显下降,这些表明两菌对环境 pH 较为敏感,在实际应用中会受水

体 pH 限制。然而,菌株 *C. lacerata* XX-2 和 *B. adusta* P2 在酸性和碱性环境下溶藻效果都较好,虽然最大抑藻率不及 *I. lacteus* XX-5,但两菌在抑藻时受 pH (4.0–10.0) 的限制不大,而这一范围也正好与微囊藻 pH 生长适应范围相似^[24],两菌的 pH 广谱适应性为它们在处理微囊藻污染的水体提供了极大的优势。

2.2 不同温度对 *I. lacteus* XX-5、*T. abietinum* 1302BG、*C. lacerata* P2、*B. adusta* XX-2 抑制铜绿微囊藻效果的影响

温度是铜绿微囊藻暴发的一个重要诱因,夏季水温基本为 15–30 °C,因此夏季高温期也是我国各大污染湖泊微囊藻暴发的季节。本研究分别在 20 °C 和 30 °C 条件下研究了温度对 *I. lacteus* XX-5、*T. abietinum* 1302BG、*C. lacerata* P2、*B. adusta* XX-2 抑制铜绿微囊藻的影响,实验结果如图 2 所示。

第 5 天时,两个温度条件下菌株 *I. lacteus* XX-5、*C. lacerata* P2 对铜绿微囊藻的抑制率几乎没有差异,且均达到 70%以上;菌株 *B. adusta* XX-2 受温度影响较小,其抑制均在 68%以上,菌株 *T. abietinum*

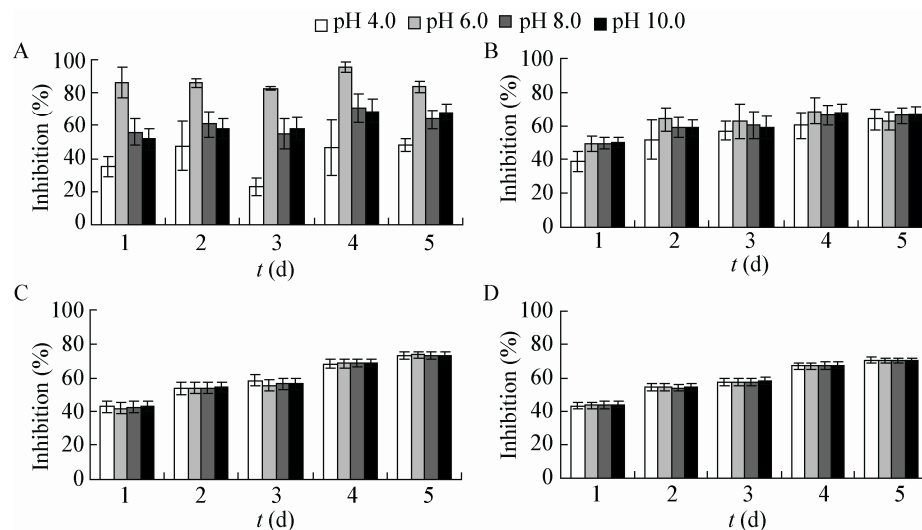


图 1 不同 pH 对 *Irpex lacteus* XX-5 (A)、*Trichaptum abietinum* 1302BG (B)、*Ceriporia lacerata* P2 (C)、*Bjerkandera adusta* XX-2 (D) 抑制铜绿微囊藻效果的影响

Figure 1 Effects of different pH on inhibition of *M. aeruginosa* by *Irpex lacteus* XX-5 (A), *Trichaptum abietinum* 1302BG (B), *Ceriporia lacerata* P2 (C) and *Bjerkandera adusta* XX-2 (D)

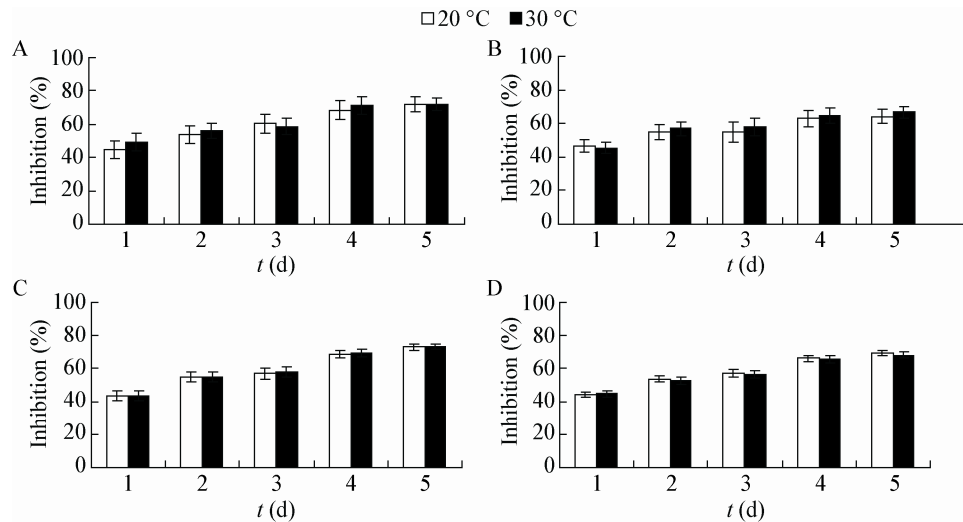


图2 不同温度对 *I. lacteus* XX-5 (A)、*T. abietinum* 1302BG (B)、*C. lacerata* P2 (C)、*B. adusta* XX-2 (D)抑制铜绿微囊藻效果的影响

Figure 2 Effects of different temperature on inhibition of *M. aeruginosa* by *I. lacteus* XX-5 (A), *T. abietinum* 1302BG (B), *C. lacerata* P2 (C) and *B. adusta* XX-2 (D)

1302BG 在 30 °C 时的抑制率比 20 °C 时的略微偏高,说明其在较高温度条件下抑藻效果更佳。室内和野外研究证明,大多数蓝藻最佳的生长温度范围为 25–35 °C^[25–26],蓝藻暴发的水体温度大概为 26 °C 左右^[27–28],温度较高有利于微囊藻成为优势藻类继而水华发生,而在中偏高的温度条件下有利于白腐真菌生长^[29],菌株 *I. lacteus* XX-5 和菌株 *C. lacerata* P2 在温度范围较广时,溶藻过程中受温度控制的影响很小,同时表现出较好的抑藻效果,菌株对温度的广泛适应性说明其在实际应用中具有较好的应用潜力。

2.3 不同藻体浓度对 *I. lacteus* XX-5、*T. abietinum* 1302BG、*C. lacerata* P2、*B. adusta* XX-2 抑制铜绿微囊藻效果的影响

实验中藻浓度分别为 2.0×10^6 cells/mL 和 6.0×10^6 cells/mL,在 5 d 的溶藻过程中,4 种菌株对铜绿微囊的抑制率如图 3 所示。

由图 3 可见,在不同的藻浓度条件下,4 种不同的菌株对铜绿微囊藻的抑制趋势大致相同。第 5 天时,抑制率均达 67% 以上,其中菌株 *C. lacerata* P2 和 *I. lacteus* XX-5 抑藻效果相对较好,其抑制率均高于 71%。在两种不同藻浓度下,4 种白腐真菌都

具有较好的溶藻效果,且抑制率随着溶藻时间延长而明显增加,可见较低或较高浓度的铜绿微囊藻对白腐真菌的溶藻效果没有产生抑制作用。不同的水体,铜绿微囊藻的浓度具有明显差异。藻体浓度可能会影响到水体通气状况,藻浓度增加可能导致水体含氧量减少,而白腐真菌属于好氧微生物,实验结果显示 4 种菌株溶藻效果受水体溶氧状况影响较小;此外,随着藻浓度的增大,藻毒素的浓度可能也相应增加,结果分析显示,受试菌株的溶藻效果随着藻浓度的增加并没有表现出明显的差异,这可能与所使用白腐真菌的耐藻毒素能力相关,菌株对藻浓度的较大范围的适应能力也成为其实际应用中的一大优势。

2.4 不同金属离子对 *I. lacteus* XX-5、*T. abietinum* 1302BG、*C. lacerata* P2、*B. adusta* XX-2 抑制铜绿微囊藻效果的影响

当环境中重金属离子浓度超过微生物可耐受浓度范围,可导致其生长缓慢或死亡。本实验分别采用 0.1 mmol/L (Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Zn^{2+})研究金属离子对白腐真菌抑制铜绿微囊藻的影响。每 24 h 取样一次,测得各组实验 5 d 后的抑制率如图 4 所示。

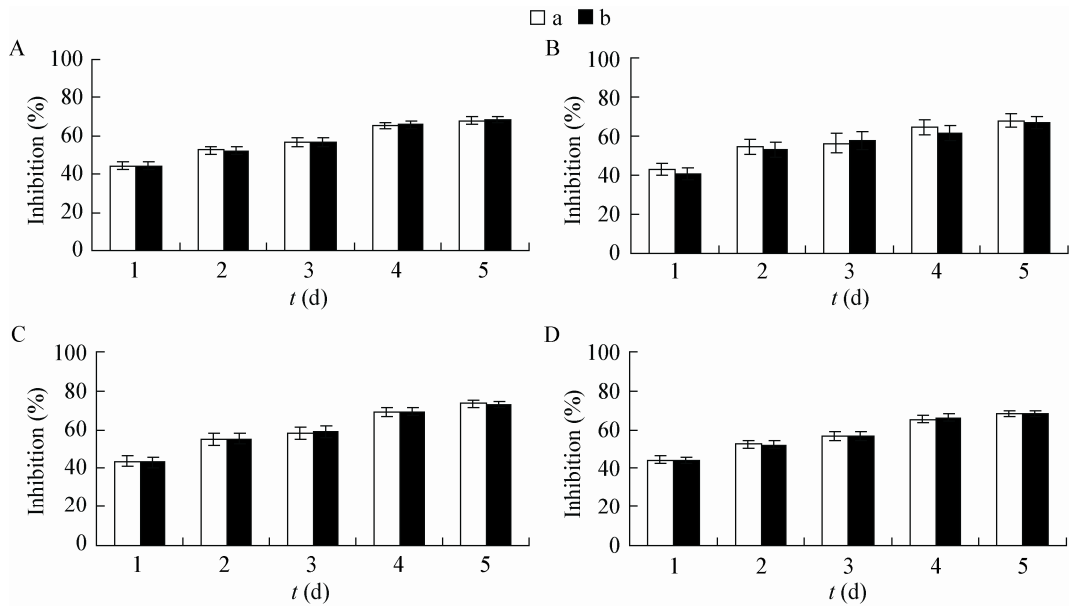


图 3 不同藻体浓度对 *I. lacteus* XX-5 (A)、*T. abietinum* 1302BG (B)、*C. lacerata* P2 (C)、*B. adusta* XX-2 (D)抑制铜绿微囊藻效果的影响

Figure 3 Effects of different concentration of algae on inhibition of *M. aeruginosa* by *I. lacteus* XX-5 (A), *T. abietinum* 1302BG (B), *C. lacerata* P2 (C) and *B. adusta* XX-2 (D)

Note: a: 2.0×10^6 cells/mL; b: 6.0×10^6 cells/mL.

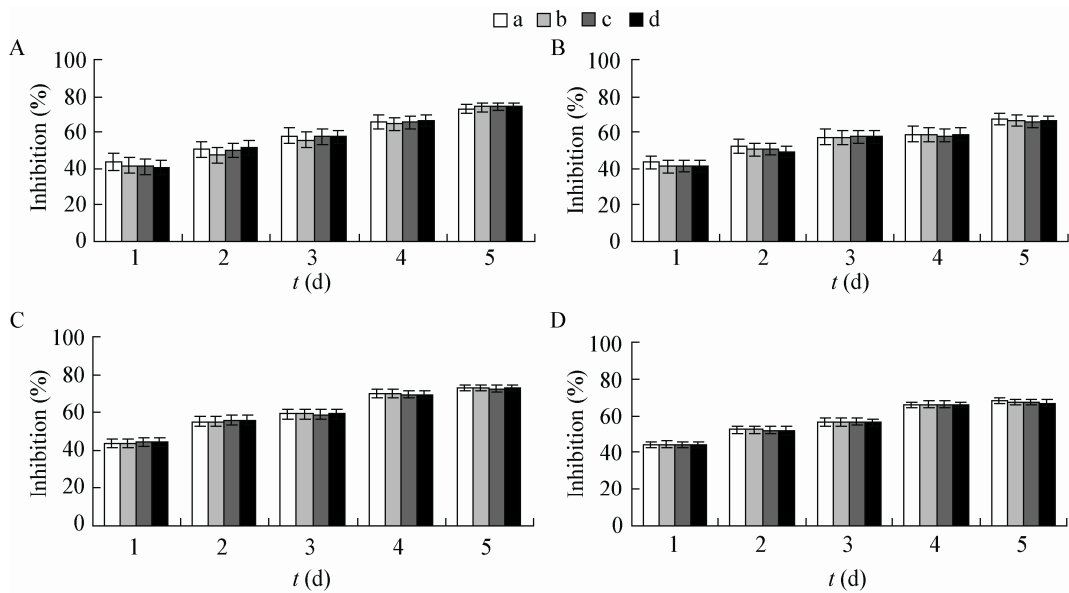


图 4 不同金属离子对 *I. lacteus* XX-5 (A)、*T. abietinum* 1302BG (B)、*C. lacerata* P2 (C)、*B. adusta* XX-2 (D)抑制铜绿微囊藻效果的影响

Figure 4 Effects of different metal ions on inhibition of *M. aeruginosa* by *I. lacteus* XX-5 (A), *T. abietinum* 1302BG (B), *C. lacerata* P2 (C) and *B. adusta* XX-2 (D)

Note: a: Pb^{2+} ; b: Cu^{2+} ; c: Cd^{2+} ; d: Zn^{2+} .

在同一菌株中,4种重金属离子对菌株的溶藻效果几乎没有差异,第5天时,菌株都表现出良好的除藻效果,尤其是菌株 *I. lacteus* XX-5 和 *C. lacerata* P2,其抑制率均达73%以上。受污染水体中通常都含有一定量 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} ,当浓度超过生物体的耐受值时就会对其产生毒害作用。有研究表明真菌对 Pb^{2+} 、 Cd^{2+} 等的敏感性较小^[30],白腐真菌可以通过吸附重金属离子^[31]来降低对自身的毒害影响,重金属离子可能与其细胞中的羟基、羧基、氨基、酰胺基等发生络合反应^[32],从而在细胞表层生成络合物或螯合物,而白腐真菌自身对重金属离子也具有一定的耐受力,实验中的菌株都表现出较好的抑藻效果而且受重金属离子的影响很小,说明其在外源重金属离子共存的情况下仍然具备高效的除藻能力。

2.5 氮源、磷源对 *I. lacteus* XX-5、*T. abietinum* 1302BG、*C. lacerata* P2、*B. adusta* XX-2 抑制铜绿微囊藻效果的影响

氮、磷元素是水体富营养化的特征性元素,是生物生长的必需元素,参与生物的多种代谢过程,促进生物的生长。工农业发展是水体富营养化的一个重要原因,大量含氮废水被排入自然水体中,尤以农业废水为甚,而农业废水中的氮元素主要来源于氮肥,本实验选取两种典型的氮肥所需原料: NH_4Cl 、 NaNO_3 的混合物(摩尔浓度比为1:1)为氮源,体系最终浓度为200 mg/L;正常水体中无机态磷主要以 H_2PO_4^- 形式存在,实验采取焦磷酸钾、磷酸二氢钾、多聚磷酸钾混合物(摩尔浓度比为1:1:1)作为磷源,体系最终浓度为500 mg/L,对照组均不加上述氮磷,考察氮磷源对白腐真菌溶藻效果的影响,实验结果如图5所示。

由图5可见,4种白腐真菌对铜绿微囊藻的抑制率随溶藻时间的延长而表现出上升的趋势。当溶藻体系中的氮源浓度为200 mg/L、磷源浓度为500 mg/L时,菌株 *I. lacteus* XX-5 前4天的溶藻过程中表现出限制作用,但第5天时却对溶藻过程起到了促进作用。适量浓度的氮、磷有利于微生物生

长,当水体中营养浓度含量较高时,铜绿微囊藻能通过细胞吸收过量的磷来促进藻体生长^[33],但菌株 *T. abietinum* 1302BG 在整个溶藻过程中溶藻效果明显被限制,有可能是氮源、磷源的浓度超过了此菌株所能适应生长的浓度;菌株 *C. lacerata* P2 和 *B. adusta* XX-2 抑制铜绿微囊藻的过程受氮源、磷源浓度大小变化影响不明显,第5天时所有处理组的抑制率均达71%以上。一般地水体含氮量大于0.2 mg/L、含磷量大于0.02 mg/L就可发生水华^[34],而氮磷浓度越高水华就越严重,本研究所使用受试菌株能够在含较高氮、磷浓度环境中表现出较好的抑藻效果,显示受试菌株能够在高营养污染的水体中具有较强的应用潜力。

2.6 铜绿微囊藻溶藻过程分析

为具体分析4种白腐真菌对铜绿微囊藻的溶藻过程,分别对单独培养基、培养基+铜绿微囊藻、培养基+铜绿微囊藻+白腐真菌(*B. adusta* XX-2、*I. lacteus* XX-5、*T. abietinum* 1302BG、*C. lacerata* P2)菌膜复合体系在不同时期的红外扫描光谱图(图6)进行分析。

曲线a是培养基的红外光谱,其主要振动谱带有的:991.41 cm^{-1} 和 1641.42 cm^{-1} 。991.41 cm^{-1} 处的峰为C—O—C伸缩振动引起的;1641.42 cm^{-1} 处的吸收则是C=O键伸缩振动所引起的。曲线b为培养基+铜绿微囊藻的红外光谱,曲线c₁、c₂、c₃和c₄分别为*B. adusta* XX-2、*I. lacteus* XX-5、*T. abietinum* 1302BG、*C. lacerata* P2复合体系消除铜绿微囊藻的红外光谱图。曲线b与a相比较,曲线b明显多产生两个强吸收峰,很有可能是铜绿微囊藻产生的,振动谱带分别为:1273.08 cm^{-1} 和 2360.87 cm^{-1} 。1273.08 cm^{-1} 处峰归属于 $-\text{NO}_2$ 或C—O键伸缩振动所引起的,2360.87 cm^{-1} 处峰归属于C—H的变形振动。分别将加入4种不同菌株后溶解铜绿微囊藻的红外光谱曲线与a、b曲线进行比较,发现曲线c₁(菌株*B. adusta* XX-2的复合体系)在1273.08—1750.42 cm^{-1} 范围内出现一些新的吸收峰,可能是由于铜绿微囊藻被菌株*B. adusta* XX-2溶解得到的物质,或

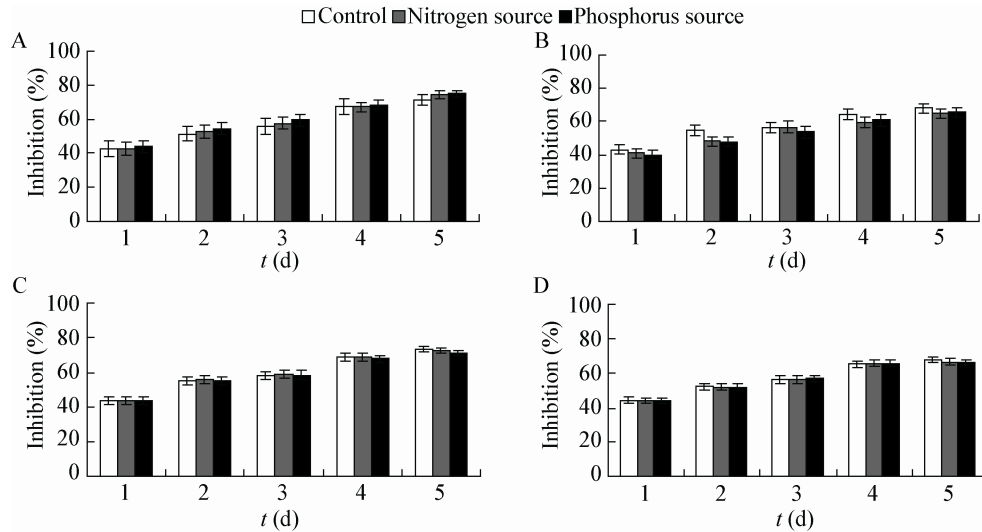


图 5 不同氮源、磷源对 *I. lacteus* XX-5 (A)、*T. abietinum* 1302BG (B)、*C. lacerata* P2 (C)、*B. adusta* XX-2 (D)抑制铜绿微囊藻效果的影响

Figure 5 Effects of nitrogen source and phosphorus source on inhibition of *M. aeruginosa* by *I. lacteus* XX-5 (A), *T. abietinum* 1302BG (B), *C. lacerata* P2 (C) and *B. adusta* XX-2 (D)

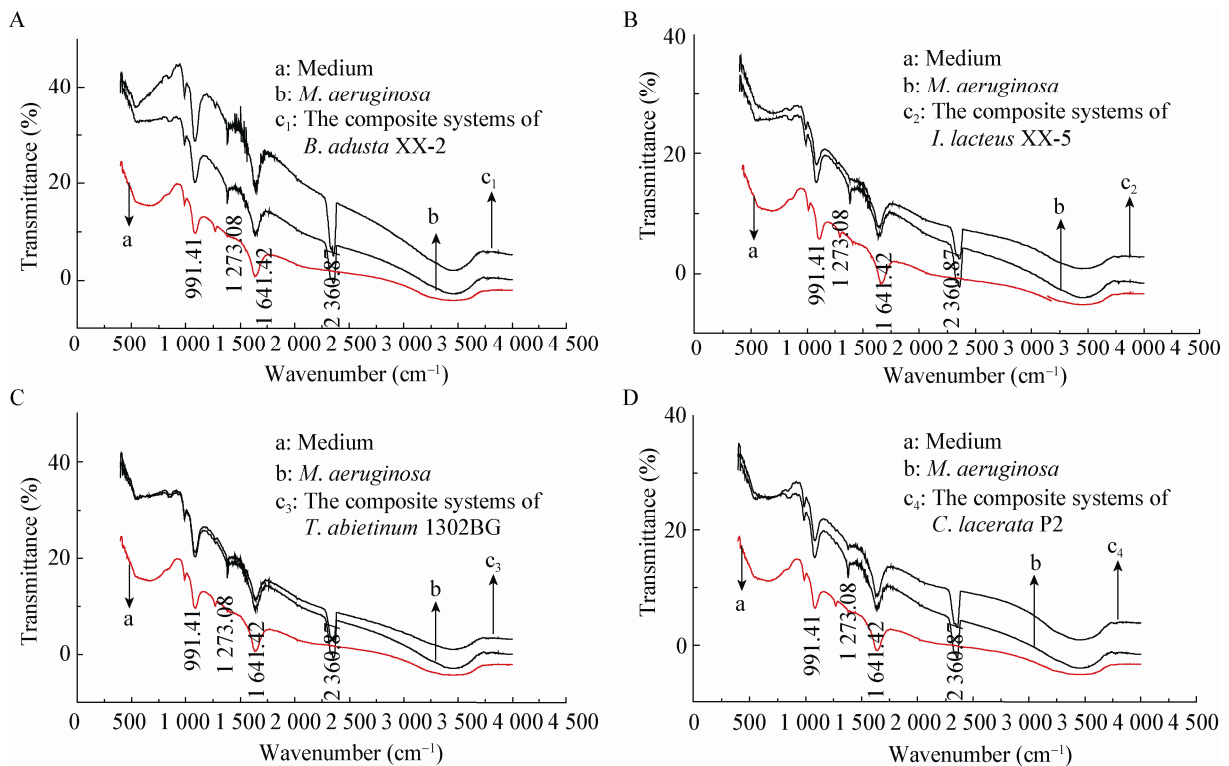


图 6 *B. adusta* XX-2 (A)、*I. lacteus* XX-5 (B)、*T. abietinum* 1302BG (C)、*C. lacerata* P2 (D)对铜绿微囊藻溶藻能力的红外分析

Figure 6 FTIR analysis on algicidal ability of *M. aeruginosa* by *B. adusta* XX-2 (A), *I. lacteus* XX-5 (B), *T. abietinum* 1302BG (C) and *C. lacerata* P2 (D)

菌株 *B. adusta* XX-2 分泌的次级代谢产物,说明藻细胞解体;曲线 c_3 (菌株 *T. abietinum* 1302BG 复合体系)在 $1\ 273.08\text{--}1\ 641.42\ \text{cm}^{-1}$ 之间产生了一些新的小吸收峰,同样是由于藻细胞溶解所致;曲线 c_2 (菌株 *I. lacteus* XX-5 复合体系)和曲线 c_4 (菌株 *C. lacerata* P2 复合体系)在 $1\ 273.08\ \text{cm}^{-1}$ 处的峰消失,这主要归结为菌株 *I. lacteus* XX-5 和 *C. lacerata* P2 中的某种些物质与铜绿微囊藻发生了反应,说明菌株 *I. lacteus* XX-5 和 *C. lacerata* P2 消除了藻体中含有 $-\text{NO}_2$ 或 $\text{C}-\text{O}$ 基团的物质。上述红外光谱分析均表明,所使用的白腐真菌菌株确实对藻类起到了消溶或降解作用。白腐真菌对染料等有机物进行降解的机理,现在已非常清晰,主要是通过白腐真菌分泌的包括漆酶、锰过氧化物酶和木质素过氧化物酶在内的胞外酶对有机物的氧化作用,如菌株 *C. lacerata* P2 主要通过分泌锰过氧化物酶和木质素过氧化物酶降解橙黄 G 染料废水^[19]。但是,这些胞外酶均为底物诱导酶,而活体微囊藻中是否大量存在类似于上述染料的化学结构目前还不确定,因此也就无法确定白腐真菌对活体藻类的消溶过程是否也是通过这些胞外酶的作用,也有可能是通过其他分泌酶对藻体进行破坏的^[35-36]。Daft 等^[37]在研究细菌溶藻过程时认为,细菌分泌能溶解藻细胞壁的酶来逐渐溶解整个藻细胞,但是哪类酶在起作用,并没有确定。而 Banin 等^[38]认为溶藻作用的产生是由于细菌对藻类光合作用系统的破坏所致,本研究也正是通过测定叶绿素-a 的减少量来确定溶藻过程的,但是白腐真菌对叶绿素的破坏究竟是通过破坏细胞壁后引起叶绿素的自然死亡,还是菌丝体穿透细胞壁后再进一步作用于叶绿素,这一问题还需要后期更加深入地研究。

3 结论

本研究采用单因素分析法研究了 pH、温度、藻体浓度、金属离子、氮磷源对 4 种白腐真菌 *I. lacteus* XX-5、*T. abietinum* 1302BG、*C. lacerata* P2、*B. adusta* XX-2 溶藻能力的影响。通过对实验数据

的分析,单因素条件下 4 种白腐真菌对铜绿微囊藻都有较好的溶藻效果。菌株 *C. lacerata* P2 几乎不受外源条件的影响,抑制率均达到 72%以上,溶藻能力最强。菌株 *B. adusta* XX-2 受外源条件影响很小,降藻能力略低于菌株 *C. lacerata* P2,抑制率均在 67.0%–70.7%之间,除藻效果较好。不同外源条件下,菌株 *I. lacteus* XX-5 的抑制率为 48.1%–74.0%,菌株 *T. abietinum* 1302BG 的抑制率为 62.9%–67.9%,具有相对较好的溶藻效果。菌株 *I. lacteus* XX-5、*T. abietinum* 1302BG 在不同 pH、温度条件控制下,对铜绿微囊藻的抑制率变化随之变化较大,氮、磷浓度较高会显著影响溶藻效果。通过红外光谱分析,白腐真菌对藻体都有不同程度的破坏,说明白腐真菌能够溶解铜绿微囊藻,但溶藻中间产物的具体结构和溶藻机理尚不清楚,有待未来深入分析研究。

综上所述,白腐真菌 *I. lacteus* XX-5、*T. abietinum* 1302BG、*C. lacerata* P2、*B. adusta* XX-2 对铜绿微囊藻具有很好的溶藻效果,这不仅为证明白腐真菌能够有效地用于处理控制蓝藻污染水体提供了有力的证据,同时也为铜绿微囊藻污染的水体处理提供了一种较为经济实用的生物治理技术。

参考文献

- [1] Kong FX, Ma RH, Gao JF, et al. The theory and practice of prevention, forecast and warning on cyanobacteria bloom in Lake Taihu[J]. Journal of Lake Sciences, 2009, 21(3): 316-318 (in Chinese)
孔繁翔, 马荣华, 高俊锋, 等. 太湖蓝藻水华的预防、预测与预警的理论与实践[J]. 湖泊科学, 2009, 21(3): 316-318
- [2] Oberholster PJ, Botha AM, Grobbelaar JU. *Microcystis aeruginosa*: source of toxic microcystins in drinking water[J]. African Journal of Biotechnology, 2004, 3(3): 159-168
- [3] Codd GA, Morrison LF, Metcalf JS. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2005, 203(3): 264-272
- [4] Wang WQ, Jin YT, Wu B, et al. Assessment on genotoxicity and health risks of microcystin in drinking water sources[J]. China Environmental Science, 2010, 30(4): 468-476 (in Chinese)
王伟琴, 金永堂, 吴斌, 等. 水源水中微囊藻毒素的遗传毒性与健康风险评价[J]. 中国环境科学, 2010, 30(4): 468-476
- [5] Geoffrey PH, Orlando S, Jeffrey DW, et al. Nitrogen availability increases the toxin quota of a harmful cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*[J]. Water Research, 2014, 54: 188-198
- [6] Alejandro MSM, Jonathan AC, Monica A, et al. Cyanobacterial

- Microcystis aeruginosa* lipopolysaccharide elicits release of superoxide anion, thromboxane B₂, cytokines, chemokines, and matrix metalloproteinase-9 by rat microglia[J]. *Toxicological Sciences*, 2011, 121(1): 63-72
- [7] Padmavathi P, Veeraiah K. Studies on the influence of *Microcystis aeruginosa* on the ecology and fish production of carp culture ponds[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2011, 8(9): 1911-1918
- [8] Jin L, Liu ZP, Zhao GM, et al. Effects of an algae-lysing bacterium on the growth of *Microcystis aeruginosa* and its identification[J]. *China Environmental Science*, 2010, 30(2): 222-227 (in Chinese)
晋利, 刘兆普, 赵耕毛, 等. 一株溶藻细菌对铜绿微囊藻生长的影响及其鉴定[J]. *中国环境科学*, 2010, 30(2): 222-227
- [9] Wang Q, Wu W, Ji L. Influence of *Bacillus laterosporus* on *Microcystis aeruginosa* growth[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(2): 383-391 (in Chinese)
王琼, 吴伟, 季丽. 侧孢芽孢杆菌对铜绿微囊藻生长胁迫的研究[J]. *农业环境科学学报*, 2014, 33(2): 383-391
- [10] Hyenstrand P, Pohrkack T, Beattie KA, et al. Laboratory studies of dissolved radiolabelled microcystin-LR in lake water[J]. *Water Research*, 2003, 37(14): 3299-3306
- [11] Ni ZL, Shen YY. The Current research status of algicidal bacteria[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2013, 13(15): 2997-2999 (in Chinese)
倪兆林, 申元英. 溶藻类细菌的研究现状[J]. *现代生物医学进展*, 2013, 13(15): 2997-2999
- [12] Li HR. The research progress in white-rot fungi[J]. *Progress in Environmental Science*, 1996, 4(6): 70-73 (in Chinese)
李慧蓉. 白腐真菌的研究进展[J]. *环境科学进展*, 1996, 4(6): 70-73
- [13] Zhang W, Feng J, Yang C, et al. Broad-spectrum degradation capability of the white rot fungus[J]. *Environment Pollution and Control*, 2012, 34(1): 64-69 (in Chinese)
张伟, 冯俊, 杨超, 等. 白腐真菌的广谱生物降解研究[J]. *环境污染与防治*, 2012, 34(1): 64-69
- [14] Fan PY, Cui JG, Jia H. Treatment of phenol-containing wastewater using immobilized white rot fungi[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2014, 8(5): 1977-1980 (in Chinese)
樊鹏跃, 崔建国, 贾贺. 固定化白腐真菌处理含酚废水[J]. *环境工程学报*, 2014, 8(5): 1977-1980
- [15] Ren DJ, Bao X, Qu JJ, et al. Study on the bioremediation of indole-contaminated soil by white rot fungi[J]. *Environment Pollution and Control*, 2013, 35(8): 5-8 (in Chinese)
任大军, 鲍欣, 瞿晶晶, 等. 白腐真菌对受吲哚污染模拟土壤的修复研究[J]. *环境污染与防治*, 2013, 35(8): 5-8
- [16] Fu H, Meng Y, Liang H, Dong YX, et al. Restoration of oil polluted soil using combined fungus of white-rot fungi and microbial inoculum[J]. *Foreste Engineering*, 2012, 28(4): 17-20 (in Chinese)
付辉, 孟瑶, 梁红, 等. 复合白腐真菌菌剂修复原油污染土壤[J]. *森林工程*, 2012, 28(4): 17-20
- [17] Xu L. Effects of adding exogenous factors on *Irpex lacteus* XX-5 degrading the Malachite Green[J]. *Industrial & Science Tribune*, 2011, 10(21): 59-61 (in Chinese)
徐丽. 外源因子添加对 *Irpex lacteus* XX-5 降解孔雀石绿的影响[J]. *产业与科技论坛*, 2011, 10(21): 59-61
- [18] Han GM, He XB, Zhang P, et al. Efficient degradation of polyporus fungus *Trichaptum abietinum* 1302BG on the synthetic dyes congo red and fuchsin acid under non-sterile condition[J]. *Microbiology China*, 2011, 38(4): 603-613 (in Chinese)
韩国民, 何兴兵, 张鹏, 等. 多孔 *Trichaptum abietinum* 1302BG 自然条件下对合成染料刚果红和酸性品红的高效降解[J]. *微生物学通报*, 2011, 38(4): 603-613
- [19] Tian QJ, Lin YH, He XB, et al. Toxicity test and decolorization of simulated orange G dye wastewater by *Ceriporia lacerate* P2 with a high-salinity tolerance[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2011, 17(6): 876-882 (in Chinese)
田启建, 林永慧, 何兴兵, 等. 耐高盐撕裂蜡孔菌 P2 模拟橙黄 G 染料废水的脱色及废水脱色前后的毒性测试[J]. *应用与环境生物学报*, 2011, 17(6): 876-882
- [20] He XB, Lin YH, Han GM, et al. Efficient degradation of Malachite Green dye by *Bjerkandera adusta* XX-2 strain in an air-opening system[J]. *Microbiology China*, 2013, 40(7): 1163-1174 (in Chinese)
何兴兵, 林永慧, 韩国民, 等. 开放条件下烟管菌 XX-2 对孔雀石绿染料的高效降解[J]. *微生物学通报*, 2013, 40(7): 1163-1174
- [21] Jeffrey SW, Humphrey GF. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c₁ and c₂ in higher plants, algae and nature phytoplankton[J]. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 1975, 167: 191-194
- [22] Zhang H, Wu H, Lan Y. Study on the degradation effect of white-rot fungi on the biomass straw[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, 39(8): 4598-4599 (in Chinese)
张辉, 吴华, 兰洋, 等. 白腐真菌降解生物质秸秆效果的研究[J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(8): 4598-4599
- [23] Zhang QT, Wang XH, Lin C, et al. Study on the relationship between pH and the growth of *Microcystis aeruginosa* in water[J]. *Journal of Hydroecology*, 2011, 32(2): 52-54 (in Chinese)
张青田, 王新华, 林超, 等. 水体 pH 和铜绿微囊藻增殖的关系研究[J]. *水生态学杂志*, 2011, 32(2): 52-54
- [24] Li XL, Geng YH, Li YG. The advantages in competition based on the photosynthetic characteristics of *Microcystis aeruginosa*[J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 2006, 24(3): 225-230 (in Chinese)
李小龙, 耿亚红, 李夜光, 等. 从光合作用特性看铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 的竞争优势[J]. *武汉植物学研究*, 2006, 24(3): 225-230
- [25] Ha K, Cho EA, Kim HW, et al. Microcystis bloom formation in the lower Nakdong River, South Korea: importance of hydrodynamics and nutrient loading[J]. *Marine and Freshwater Research*, 1999, 50(1): 89-94
- [26] Lin YX, Han M. The study growth factor of the *Microcystis aeruginosa* Kütz during eutroption of Dianchi Lake[J]. *Advances in Environmental Science*, 1998, 6(3): 82-87
- [27] Gao LH, Xie L. Analysis of the influence of meteorological condition on cyanobacterial and treatment methods in Taihu Lake[J]. *Chinese Resources Comprehensive Utilization*, 2011, 29(9): 35-37 (in Chinese)
高龙华, 谢龙. 太湖蓝藻爆发的气象条件影响及其治理措施[J]. *中国资源综合利用*, 2011, 29(9): 35-37
- [28] Zhao MX, Han BP. Analysis of factors affecting cyanobacteria bloom in atropical reservoir (Tangxi Reservoir, China)[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(7): 1554-1560 (in Chinese)
赵孟雄, 韩博平. 汤西水库蓝藻水华发生的影响因子分析[J]. *生态学报*, 2005, 25(7): 1554-1560
- [29] Liang Z, Zhang K. Study on physicochemical conditions of white-rot fungus mycelial growth[J]. *Journal of Xinyang Normal University (Natural Science Edition)*, 2009, 22(1): 66-70 (in Chinese)
梁峙, 张凯. 白腐真菌菌丝生长的物理化学条件研究[J]. *信阳师范学院学报: 自然科学版*, 2009, 22(1): 66-70
- [30] Li SY, Ma YQ, Su YL, et al. Effect of heavy metal stress on microbial growth[J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2012, 40(2): 90-94 (in Chinese)
李淑英, 马玉琪, 苏亚丽, 等. 重金属胁迫培养对微生物生长

- 的影响[J]. 贵州农业科学, 2012, 40(2): 90-94
- [31] Wu J, Li QB, Deng X, et al. Study on the adsorption capacities of Pb by the white-rot fungi[J]. Acta Microbiologica Sinica, 1999, 39(1): 87-90 (in Chinese)
吴涓, 李清彪, 邓旭, 等. 白腐真菌吸附铅的研究[J]. 微生物学报, 1999, 39(1): 87-90
- [32] Jin K, Li XM, Yang Q, et al. Development of research on adsorption of heavy metal ions in wastewater by white-rot fungi[J]. Industrial Water & Wastewater, 2005, 36(2): 15-17 (in Chinese)
金科, 李小明, 杨麒, 等. 白腐真菌吸附废水中重金属离子的研究进展[J]. 工业用水与废水, 2005, 36(2): 15-17
- [33] Reynolds CS, Oliver RL, Walsby AE. Cyanobacterial dominance: the role of buoyancy regulation in dynamic lake environments[J]. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, 1987, 21(3): 379-390
- [34] Chen Q. Influence of nitrogen-phosphorus on water-bloom[J]. Bulletin of Biology, 2006, 41(5): 12-14 (in Chinese)
陈琼. 氮、磷对水华发生的影响[J]. 生物学通报, 2006, 41(5): 12-14
- [35] Wang Q, Su M, Zhu W, et al. Growth inhibition of *Microcystis aeruginosa* by white-rot fungus *Lopharia spadicea*[J]. Water Science and Technology, 2010, 62(2): 317-323
- [36] Jia Y, Han GM, Wang CY, et al. The efficacy and mechanisms of fungal suppression of freshwater harmful algal bloom species[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 183(1/3): 176-181
- [37] Daft MJ, Mccord SB, Stewart WDP. Ecological studies on algal lysing bacteria in fresh waters[J]. Freshwater Biology, 1975, 5(6): 577-596
- [38] Banin E, Khare SK, Naider F, et al. Proline-rich peride from the coral pathogen *Vibrio shiloi* that inhibits photosynthesis of zooxanthellae[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(4): 1536-1541

征 稿 简 则

1 刊物简介与栏目设置

《微生物学通报》是由中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办的, 以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括: 工业微生物学、海洋微生物学、环境微生物学、基础微生物学、农业微生物学、食品微生物学、兽医微生物学、药物微生物学、医学微生物学、病毒学、酶工程、发酵工程、代谢工程等领域的最新研究成果, 产业化新技术和新进展, 以及微生物学教学研究和改革等。设置的栏目有: 研究报告、专论与综述、生物实验室、高校教改纵横、名课讲堂、教学与科研成果展示、显微世界、专题专栏、专家论坛、书讯、会讯等。

2 投稿方式

投稿时请登陆我刊主页 <http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>, 点击作者投稿区, 第一次投稿请先注册, 获得用户名和密码, 然后依照提示提交稿件, 详见主页“投稿须知”。

作者必须在网站投.doc 格式的电子稿, 凡不符合(投稿须知)要求的文稿, 本部恕不受理。

3 写作要求

来稿要求论点明确, 数据可靠, 简明通顺, 重点突出。

3.1 图表

文中的图表须清晰简明, 文字叙述应避免与图表重复。所有小图的宽度应小于 8 cm (占半栏), 大图的宽度应小于 17 cm (通栏)。

3.2 参考文献及脚注

参考文献按文内引用的先后顺序排序编码, 未公开发表的资料请勿引用。我刊的参考文献需要注明著者(文献作者不超过 3 人时全部列出, 多于 3 人时列出前 3 人, 后加“等”或“et al.”, 作者姓前、名后, 名字之间用逗号隔开)、文献名、刊名、年卷期及页码。国外期刊名必须写完整, 不用缩写, 不用斜体。参考文献数量不限。

参考文献格式举例:

- [1] Marcella C, Claudia E, Pier GR, et al. Oxidation of cystine to cysteic acid in proteins by peroyacids as monitored by immobilized pH gradients[J]. Electrophoresis, 1991, 12(5): 376-377
- [2] Wang BJ, Liu SJ. Perspectives on the cultivability of environmental microorganisms[J]. Microbiology China, 2013, 40(1): 6-17 (in Chinese)
王保军, 刘双江. 环境微生物培养新技术的研究进展[J]. 微生物学通报, 2013, 40(1): 6-17
- [3] Shen T, Wang JY. Biochemistry[M]. Beijing: Higher Education Press, 1990: 87 (in Chinese)
沈同, 王镜岩. 生物化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990: 87
- [4] Liu X. Diversity and temporal-spatial variability of sediment bacterial communities in Jiaozhou Bay[D]. Qingdao: Doctoral Dissertation of Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2010 (in Chinese)
刘欣. 胶州湾沉积物细菌多样性及菌群时空分布规律[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所博士学位论文, 2010

脚注(正文首页下方):

基金项目: 基金项目(No.)

*通讯作者: Tel: ; Fax: ; E-mail:

收稿日期: 2015-00-00; 接受日期: 2015-00-00; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-00-00

(下转 p.524)