

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.16040

铜绿微囊藻和小球藻对水环境 pH 的影响

苏发文^{1,2}, 高鹏程¹, 来琦芳¹, 么宗利¹, 陆建学¹, 周凯¹, 仲启铨¹, 郑亮¹, 王慧¹

1. 中国水产科学研究院 东海水产研究所, 咸淡水养殖工程技术中心, 上海 200090;

2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306

摘要: 以盐碱池塘优势微藻铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)、小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)为研究对象, 采用正交实验方法, 研究不同温度(20℃, 25℃, 30℃)和光照强度(2000 lx, 4000 lx, 6000 lx)组合条件下两种微藻对水环境 pH 的影响。结果显示, 处于对数生长期的铜绿微囊藻和小球藻均能使水环境 pH 上升。在本实验范围内, 不同温度和光照强度组合条件下, 铜绿微囊藻的生长均能使水环境 pH 显著上升至 9.50 以上, 在温度 25℃、光照强度 2000 lx 条件下, 藻密度达最大值 1.1×10^7 cells/mL, 水环境 pH 也达到峰值 10.83; 小球藻生长亦能使水环境 pH 的上升, 并随温度升高、光照强度增强而增大, 在温度 30℃、光照强度 6000 lx 条件下, 藻密度达最大值 8.1×10^6 cells/mL, 水环境 pH 也达到峰值 7.73。通过 ANCOVA 分析, 水环境 pH 和藻细胞密度呈正相线性相关, 铜绿微囊藻水环境 pH 和藻细胞密度相关系数 $R^2=0.904$, 小球藻水环境 pH 和藻细胞密度相关系数 $R^2=0.903$ 。与小球藻相比, 同等藻密度的铜绿微囊藻更易使水环境 pH 显著上升($P<0.01$), 是池塘养殖水体 pH 偏高的主要原因之一, 本研究旨在通过控制藻相方式进行水环境调控, 从而防止池塘 pH 偏高提供了基础数据。

关键词: 铜绿微囊藻; 小球藻; 温度; 光照强度; pH

中图分类号: S912

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2016)06-1380-09

水环境是养殖生物赖以生存的生境, 水环境的好坏直接影响到养殖生物的生长、发育。而在众多影响水环境的因子中, pH 作为养殖水体重要指标之一, 是水体化学性状和生命活动的综合反应, 也是影响养殖生物活动重要的综合生态因素。pH 的异常变化通常会对养殖生物产生不利的影响, 在高 pH 环境下不仅会直接抑制养殖生物的摄食^[1]、生长^[2-3]及生理代谢^[4-6], 还常常通过交互其他水环境因子如碳酸盐碱度、氨等间接作用于养殖生物^[7-8]。尤其在盐碱水池塘养殖中, 高碳酸盐碱度、高 pH 始终是制约水产养殖健康发展的主要环境因素^[9]。

相关研究表明, 池塘水环境 pH 主要是受水体中碳酸盐平衡系统($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{H}^+ +$

$\text{HCO}_3^- \leftrightarrow 2\text{H}^+ + \text{CO}_3^{2-}$)的影响^[10], 水体中 CO_2 的含量是影响碳酸盐平衡系统的主要因子, 而水体中 CO_2 的含量又受到诸多因素的影响, 水温、生物活动、有机质的分解以及池水的缓冲作用等均会影响其变化, 在富营养型水体中, 生物活动对 CO_2 的含量影响最为显著^[11]。因此, 当水体中微藻细胞密度达到一定数目时, 其数量的多少、代谢活动的强弱会对水环境 pH 变化产生重要的影响。微藻作为养殖水体生态系统的重要组成部分^[12], 在水产养殖过程中起到重要的作用。2014 年, 本实验室对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)盐碱水养殖池塘进行定期监测发现, 水环境 pH 偏高的池塘蓝绿藻均为优势藻种, 故本研究选取蓝藻代表种铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)及

收稿日期: 2016-03-17; 修订日期: 2016-04-17.

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(中国水产科学研究院东海水产研究所, 2014T04); 上海科技兴农[沪农科攻字(2015)第 1-6 号].

作者简介: 苏发文(1988-), 硕士研究生, 主要从事养殖生理生态研究. E-mail: sufawen1213@163.com

通信作者: 来琦芳, 研究员, 主要从事盐碱水土资源渔业开发研究. E-mail: laiqlf@ecsf.ac.cn

池塘常见绿藻优势种小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)作为研究对象,旨在探讨池塘水环境 pH 升高与藻类种类之间的相关性,探索两种微藻在生长过程中对水环境 pH 的影响及变化规律,为池塘养殖水环境调控提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 实验藻种及培养基

为保证藻种的纯度,铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*) (编号: FACHB-836)、小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*) (编号: FACHB-17)均购自中国科学院水生生物研究所淡水藻种库,保种铜绿微囊藻采用 BG-11 培养基培养,小球藻采用 SE 培养基培养, BG-11、SE 培养基均根据水生生物研究所提供方法配制。

保种条件为: 温度 25℃、光照条件 2000 lx, 光暗周期比 12L : 12D, 每天早晚各摇动藻液一次。

1.2 实验方法

1.2.1 实验器皿的洗涤 实验所需玻璃器皿经洗涤后,在 0.3 mol/L HCl 中浸泡 30 min,再用蒸馏水冲洗干净、烘干,121℃高压蒸汽灭菌 30 min 备用。

1.2.2 接种及培养 分别取一定体积处于对数生长期的铜绿微囊藻、小球藻,将所需藻液经 3000 r/min 离心 15 min,弃掉上清液,用 15 mg/L 的 NaHCO₃ 溶液洗涤后再次离心,重复 3 次,用无菌水稀释后分别接入经高压蒸汽灭菌后的 BG-11、SE 培养液中,两种微藻初始接入浓度均为 2.0×10^6 cells/mL,起始 pH 值均调为 7.0。

1.2.3 实验设计 采用正交实验的方法,研究了不同温度(20℃、25℃、30℃)和光照强度(2000 lx、4000 lx、6000 lx)组合条件下两种微藻对水环境 pH 的影响,实验共设置 9 组。为避免空气中过多的 CO₂ 对水环境 pH 造成影响,每组取接种后的藻液 500 mL 装于 500 mL 锥形瓶,设置 3 组重复。同时为避免水环境 pH 在实验期间发生变化,另设不添加微藻,只添加对应培养基组作为空白对照,瓶口均做封闭处理。在光暗比 12L : 12D 的条件下进行实验,每天摇动藻液 2 次,实验周期为 10 d。

1.2.4 测定指标及方法

(1) 藻细胞密度(ACD)测定 参照陈坤等^[13]

的方法,每天定时取 1 mL 的藻液,稀释 10 倍,在光学显微镜 400×下用血小球计数板计数微藻的浓度,每个样品计数 3~4 次,取平均值。

(2) 水质 pH 值测定 每天定时取 2 mL 的藻液,用 PHB-4 型便携式 pH 计(雷磁,上海)测定每个样品水质 pH 值。

(3) 水质 pH 增幅 ΔpH

$$\Delta pH = pH_2 - pH_1$$

pH₂: 实验组水质 pH 达到的峰值; pH₁: 对应对照组水质 pH 峰值。

1.3 数据计算与分析

采用统计软件 SPSS 19.0 对数据进行统计分析。不同温度、光照强度交互作用下水质 pH 的增幅 ΔpH 进行双因素方差分析,藻细胞浓度及水质 pH 相关性进行 ANCOVA 分析,以 $P < 0.05$ 作为不同处理之间差异显著, $P < 0.01$ 作为不同处理之间差异极显著的标志。数据以平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示。

2 结果与分析

2.1 铜绿微囊藻和小球藻对水环境 pH 的影响

实验结果显示,处于对数生长期的铜绿微囊藻和小球藻均能促使水环境 pH 升高。对两种微藻在不同组合条件下水环境中的 pH 增幅 ΔpH 做双因素方差分析,分析结果显示,铜绿微囊藻和小球藻对水环境 pH 的影响因温度、光照强度的交互作用而呈现差异性显著 ($P < 0.05$),其中,温度的影响大于光照强度的影响。铜绿微囊藻和小球藻促使水环境 pH 上升幅度存在极显著性差异 ($P < 0.01$),铜绿微囊藻作用结果显著高于小球藻。

实验期间铜绿微囊藻和小球藻促使水环境中的 pH 值增幅 ΔpH 详见图 1。由图 1 可以看出,温度对铜绿微囊藻促使水环境 pH 上升幅度表现为 25℃组 > 20℃组 > 30℃组,光照强度对铜绿微囊藻促使水环境 pH 上升幅度表现为 2000 lx 组 > 4000 lx 组 > 6000 lx 组,温度和光照强度的交互作用对铜绿微囊藻促使水环境 pH 上升幅度表现为 25℃/2000 lx 组合 > 25℃/4000 lx 组合 > 25℃/6000 lx 组合 > 20℃/2000 lx 组合 > 20℃/4000 lx 组合 > 20℃/6000 lx 组合 > 30℃/2000 lx 组合 > 30℃/4000 lx 组合 > 30℃/

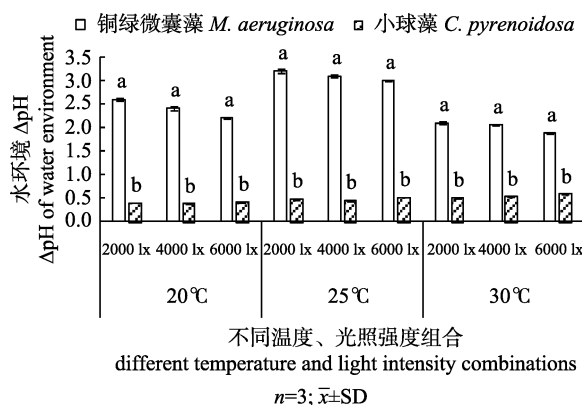


图 1 不同温度、光照组合条件下铜绿微囊藻和小球藻促使水环境 pH 变化增幅 ΔpH
柱上不同的字母表示数据间差异显著 ($P < 0.05$).

Fig. 1 ΔpH of water environment for *M. aeruginosa* and *C. pyrenoidosa* at different temperature and lights intensity combinations

Values with different letters for column are significantly different from each other ($P < 0.05$).

6000 lx 组合。在温度为 25℃、光照强度为 2000 lx 组合条件下,铜绿微囊藻促使水环境 pH 上升幅度最为显著, ΔpH 达到 3.23。小球藻促使水环境 pH 上升幅度随着温度的升高、光照强度的增强而增加,温度对小球藻促使水环境 pH 上升幅度总体表现为 30℃ 组 > 25℃ 组 > 20℃ 组,光照强度对小球藻促使水环境 pH 上升幅度总体表现为 6000 lx 组 > 4000 lx 组 > 2000 lx 组,温度和光照强度的交互作用对小球藻促使水环境 pH 上升幅度表现为 30℃/6000 lx 组合 > 30℃/4000 lx 组合 > 30℃/2000 lx

组合 > 25℃/6000 lx 组合 > 25℃/4000 lx 组合 > 25℃/2000 lx 组合 > 20℃/6000 lx 组合 > 20℃/4000 lx 组合 > 20℃/2000 lx 组合。在温度为 30℃、光照强度为 6000 lx 时,小球藻促使水环境 pH 上升幅度最为显著, ΔpH 达到 0.57。

2.2 不同温度、光照强度下铜绿微囊藻和小球藻藻细胞密度及水环境 pH 变化规律

由图 2~图 4 可以看出,不同组合条件下,铜绿微囊藻藻细胞密度在实验前 3 d 变化均不明显,但均能在短时间内促使水环境 pH 显著上升。实验期间水环境 pH 随着藻细胞密度的增加而升高,峰值均达到 9.50 以上。温度为 25℃、光照强度为 6000 lx 时藻细胞密度增加及水环境 pH 的上升最为显著,藻细胞密度在实验第 10 天达到最大值 1.1×10^7 cells/mL,水环境 pH 在实验第 9 天达到峰值 10.83。

由图 5~图 7 可以看出,自实验第 1 天起,任一组合条件下,随着小球藻密度的增加,水环境 pH 亦随之升高,实验期间藻细胞密度和水环境 pH 均在第 10 天达到最大值。温度为 30℃、光照强度为 6000 lx 时最为显著,藻细胞密度达到的最大值 8.1×10^6 cells/mL,水环境 pH 达到峰值 7.73。

2.3 铜绿微囊藻、小球藻藻细胞密度与水环境 pH 的相关性分析

实验期间随着铜绿微囊藻、小球藻藻细胞密度的增加,水环境 pH 也随之升高,二者的变化趋势表现相一致。因此对不同温度、光照强度组合

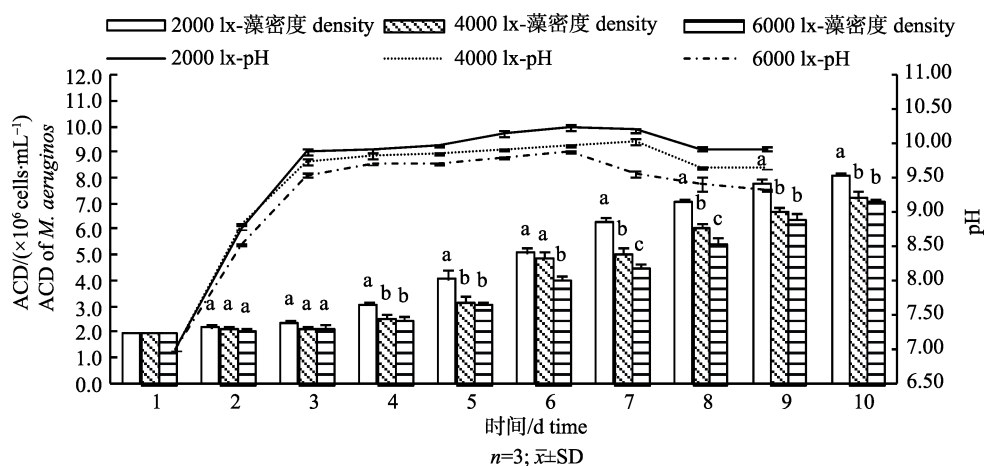


图 2 20℃ 不同光照条件下铜绿微囊藻藻密度及水环境 pH 变化

柱上不同的字母表示数据间差异显著 ($P < 0.05$).

Fig. 2 Cell density of *M. aeruginosa* and the pH value of water environment at 20℃ and different light intensities
Values with different letters for column are significantly different from each other ($P < 0.05$).

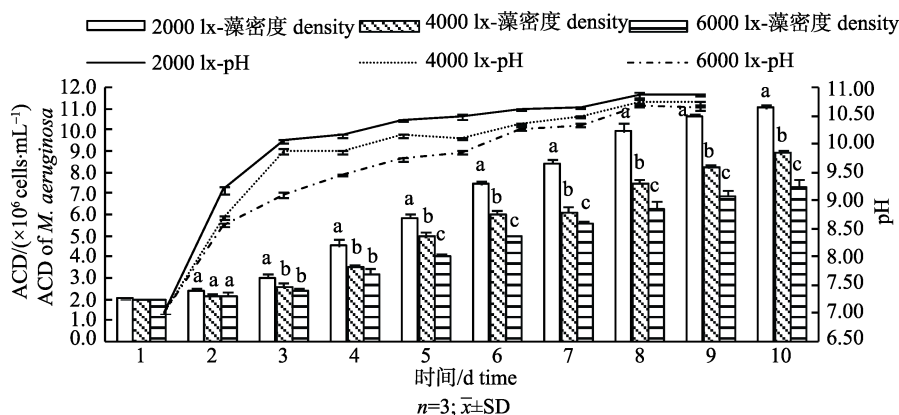


图 3 25℃不同光照条件下铜绿微囊藻藻密度及水环境 pH 变化

柱上不同的字母表示数据间差异显著($P<0.05$).

Fig. 3 Cell density of *M. aeruginosa* and the pH value of water environment at 25℃ and different light intensities
Values with different letters for column are significantly different from each other ($P<0.05$).

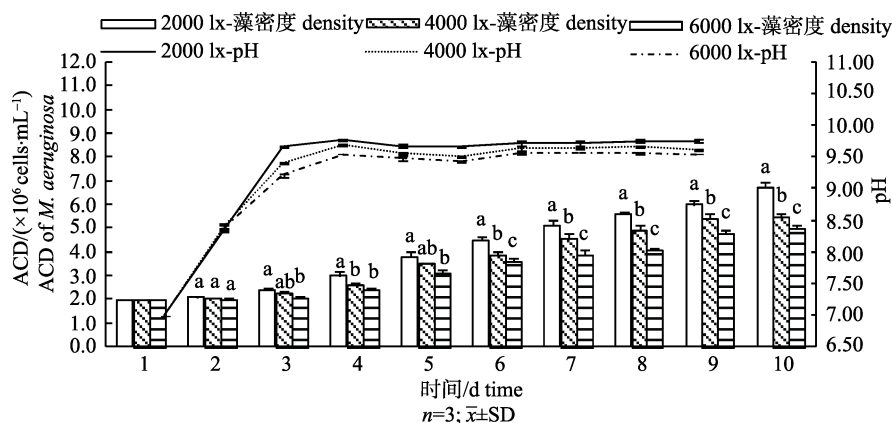


图 4 30℃不同光照条件下铜绿微囊藻藻密度及水环境 pH 变化

柱上不同的字母表示数据间差异显著($P<0.05$).

Fig. 4 Cell density of *M. aeruginosa* and the pH value of water environment at 30℃ and different light intensities
Values with different letters for column are significantly different from each other ($P<0.05$).

条件下铜绿微囊藻和小球藻藻细胞密度同相应水环境 pH 相关性进行 ANCOVA 分析, 结果显示水环境 pH 和藻细胞密度呈正相线性相关(图 8)。由图 8 可以看出, 铜绿微囊藻水环境 pH 和藻细胞密度相关系数 $R^2=0.904$, 小球藻水环境 pH 和藻细胞密度相关系数 $R^2=0.903$ 。此外, 铜绿微囊藻和小球藻对水环境 pH 贡献率有极显著差异($P<0.01$)。同等藻细胞密度下, 铜绿微囊藻促使水环境 pH 显著上升。

3 讨论

3.1 铜绿微囊藻和小球藻促使水环境 pH 的上升幅度存在显著差异

在本实验范围内, 处于对数生长期的铜绿微

囊藻和小球藻均能促使水环境 pH 上升, 这与水环境中的碳酸盐平衡系统($\text{CO}_3^{2-}-\text{HCO}_3^--\text{CO}_2$)有关。水体中 CO_2 、 HCO_3^- 和 CO_3^{2-} 的相对含量决定了水环境 pH 的高低^[14], 微藻在进行光合作用过程中会消耗大量溶解于水体中的 CO_2 , 导致 CO_2 含量降低^[15], 破坏水体中 H_2CO_3 原有的平衡, 从而促使水环境 pH 的上升^[16-17]。

相比小球藻, 铜绿微囊藻能使水环境 pH 在实验前 3 d 内显著升高, 不同处理组水环境 pH 值峰值均可达 9.50 以上; 而小球藻促使水环境 pH 上升的幅度相对较小, 实验 10 d 内水环境 pH 达到的最大值仅为 7.73。两种微藻作用于水环境中 pH 上升幅度有显著性差异, 这可能与两种微藻对水环境中无机碳源的摄取和利用过程有关。有学

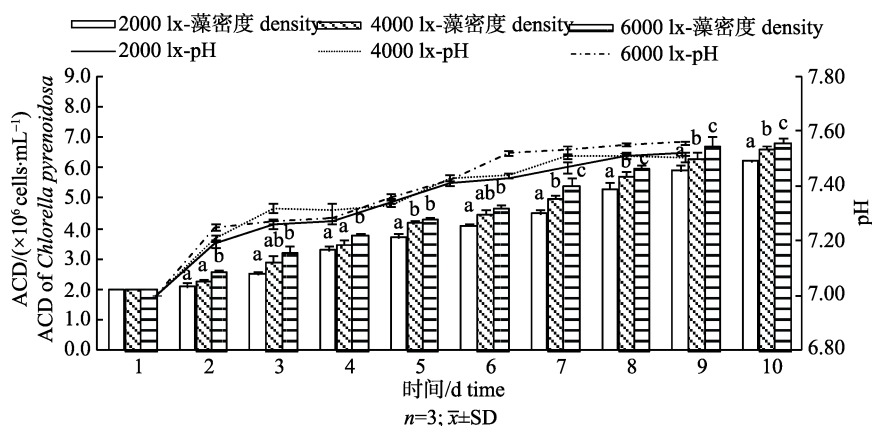


图 5 20°C不同光照条件下小球藻藻密度及水环境 pH 变化

柱上不同的字母表示数据间差异显著($P < 0.05$).

Fig. 5 Cells density of *C. pyrenoidosa* and the pH value of water environment at 20°C and different light intensities
Values with different letters for column are significantly different from each other ($P < 0.05$).

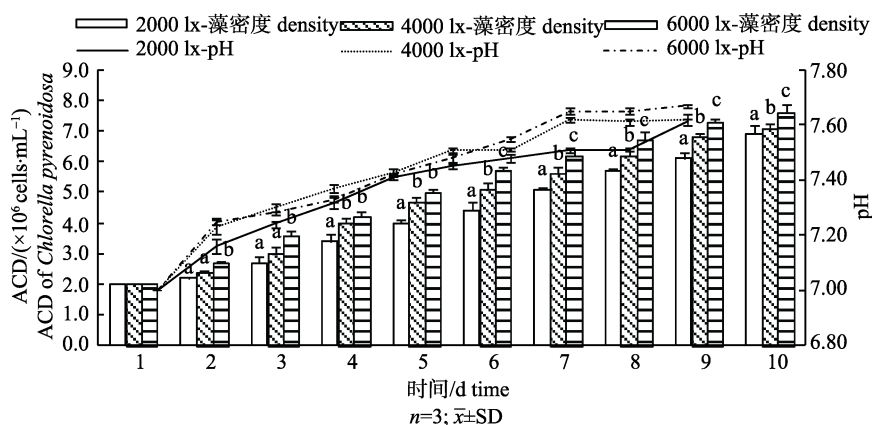


图 6 25°C不同光照条件下小球藻藻密度及水环境 pH 变化

柱上不同的字母表示数据间差异显著($P < 0.05$).

Fig. 6 Cells density of *C. pyrenoidosa* and the pH value of water environment at 25°C and different light intensities
Values with different letters for column are significantly different from each other ($P < 0.05$).

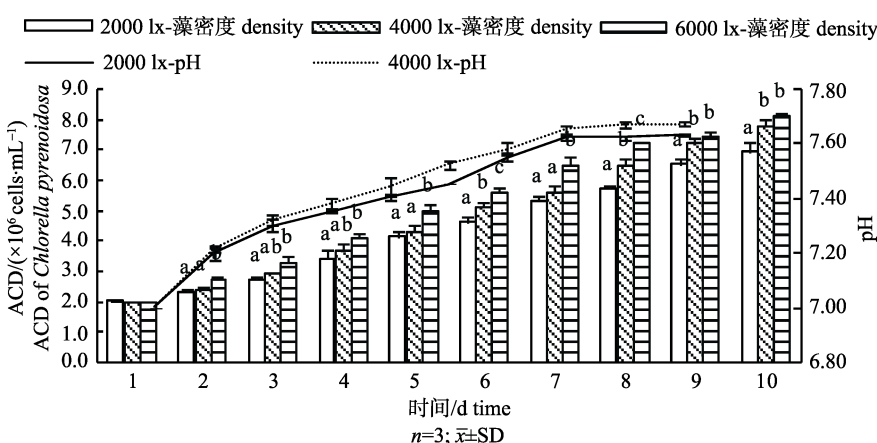


图 7 30°C不同光照条件下小球藻藻密度及水环境 pH 变化

柱上不同的字母表示数据间差异显著($P < 0.05$).

Fig. 7 Cells density of *C. pyrenoidosa* and the pH value of water environment at 30°C and different light intensities
Values with different letters for column are significantly different from each other ($P < 0.05$).

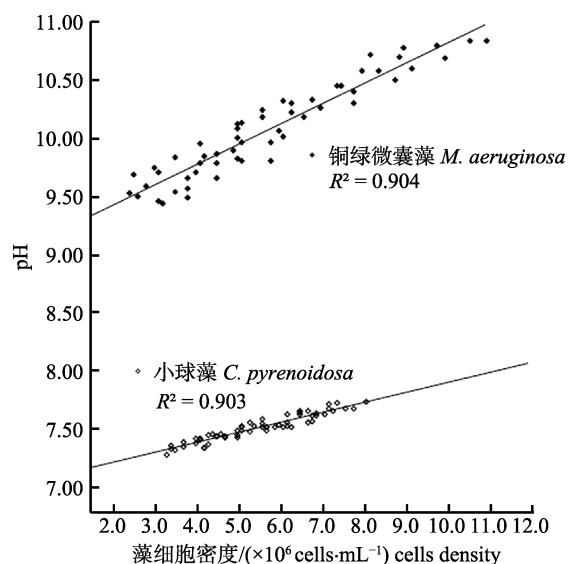


图 8 铜绿微囊藻、小球藻藻细胞密度与水环境 pH 值相关性分析

Fig. 8 Correlation of pH value and cells density of *M. aeruginosa* and *C. pyrenoidosa*

者研究认为,当温度、盐度等条件固定时,水环境中 pH 变化的速度与无机碳种类浓度的变化速度有密切的相关性^[18]。在碱性环境中,藻类的光合效率将主要依赖于对 HCO_3^- 的利用,一些藻类通常能够借助细胞表面的碳酸酐酶(CA)将水环境中的 HCO_3^- 转化为可以被吸收和固定的 CO_2 ^[19-21],或者通过阴离子交换机制使 HCO_3^- 直接进入胞内,交换出 OH^- ^[22-23],完成利用 HCO_3^- 的过程,推升水环境 pH 值的上升。支彦丽等^[24]利用 pH 漂移技术对铜绿微囊藻和四尾栅藻光合利用碳酸氢盐进行了探讨,发现两种微藻对碳酸氢盐均有较强的利用能力,在光合利用无机碳摄取过程中都能推升培养液 pH 上升至 11.0 左右,因此铜绿微囊藻在利用水环境中碳酸氢盐能力比较强,从而使水环境 pH 显著上升。也有学者研究认为在低 CO_2 浓度介质中,蓝藻可以通过高效的主动吸收浓缩外源无机碳,在细胞内积累比介质中浓度高出几百到几千倍的 CO_2 ,由此能够在所栖息的水环境中最大限度的竞争利用有限无机碳源,以保持其稳定生长^[25],在本实验过程中,封闭的实验条件避免了空气中 CO_2 溶于培养水体中,当水环境中 CO_2 被大量吸收利用后,在低 CO_2 浓度或高 pH 的水体中,铜绿微囊藻可能更易于捕捉水环境中的

CO_2 ,具有较高的光合作用速率,从而使水环境 pH 显著上升,这可能也是铜绿微囊藻相比小球藻更易促使水环境 pH 升高的另一个原因。

3.2 铜绿微囊藻和小球藻藻细胞浓度对水环境 pH 的影响

铜绿微囊藻和小球藻对水环境 pH 的影响因温度、光照强度及其交互作用而呈现显著性差异。在本实验范围内,微囊藻最适生长光照强度为 2000 lx,与郑忠明等^[26]、张青田等^[27]低光照强度更有利于微囊藻生长研究结果相符;小球藻在温度为 30℃、光照强度为 6000 lx 时,生长最为旺盛,这同王菁等^[28]、张曼等^[29]所得温度越高、光照强度越强越有利于小球藻生长的结论相一致。

鉴于水环境中 pH 的变化趋势同两种微藻的藻细胞密度变化趋势相一致,在不同温度和光照强度组合条件下,当藻细胞浓度达到最大值时,水环境 pH 也达到相应的峰值,因此将实验期间两种微藻藻细胞密度同对应水环境 pH 值之间的相关性进行 ANCOVA 分析,发现水环境中 pH 的上升和铜绿微囊藻和小球藻的生长繁殖呈现出密切的相关性,呈正相线性关系。另外,同等藻细胞浓度下,铜绿微囊藻对水环境 pH 的贡献率显著高于小球藻,当藻细胞密度达到 2.3×10^6 cells/mL,铜绿微囊藻实验组水环境 pH 已显著超出适宜养殖生物生长 pH 值范围 6.5~8.5,小球藻实验组水环境 pH 依旧处在此适宜范围之间。

此外,在本实验中,铜绿微囊藻在实验前 3 d 藻细胞密度变化并不明显,而水环境 pH 却在短时间内显著升高,自实验第 4 天起,水环境 pH 达 8.50 以上,铜绿微囊藻生长速度加快, pH 处在 8.5~9.5 时铜绿微囊藻均有较高的生长量,这说明铜绿微囊藻对水环境 pH 具有较强的调节能力,碱性环境更有利于铜绿微囊藻的生长繁殖。陈建中等^[30]报道,当 pH 高于 8.5 时,不利于铜绿微囊藻的生长,许海等^[31]研究称铜绿微囊藻最适 pH 为 9.0,这可能是由于实验藻株、生长环境等的不同导致不同研究结果之间存在差异。本研究结果表明,高 pH 水环境可以促进铜绿微囊藻大量生长繁殖,铜绿微囊藻的暴发又促使水环境的 pH 再次升高,从而阻碍了养殖生物的健康生长。

从本实验结果看,在池塘水产养殖过程中,铜绿微囊藻的大量生长繁殖,不仅是养殖水环境 pH 即将升高的预警信息,也是造成养殖水环境 pH 偏高的主要因素之一。由此,在养殖期间,防止铜绿微囊藻等蓝藻的大量增殖,控制其藻细胞密度在 2.0×10^6 cells/mL 以下,对调控养殖水环境 pH 使其适宜养殖生物的生长具有重要的意义。

参考文献:

- [1] Chen S M, Chen J C. Effects of pH on survival, growth, molting and feeding of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Aquaculture*, 2003, 218(1-4): 613-623.
- [2] Lin T T, Lai Q F, Lu J X, et al. Toxic effects of several saline-alkali factors on *Cyclina sinensis*[J]. *Marine Fisheries*, 2012, 34(2): 183-188. [林听听, 来琦芳, 陆建学, 等. 几种盐碱因子对青蛤的致毒效应[J]. *海洋渔业*, 2012, 34(2): 183-188.]
- [3] Zheng Z H, Dong S L, Tian X L. Effects of cyclic pH with different durations on the growth of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2008, 38(1): 45-51. [郑振华, 董双林, 田相利. pH 不同处理时间的周期性变动对凡纳滨对虾生长的影响[J]. *中国海洋大学学报: 自然科学版*, 2008, 38(1): 45-51.]
- [4] Zhang F Y, Li X F. Studies on the effects of low pH on embryonic development, growth of the fry and the damage of gills of fishes[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1992, 16(2): 175-182, 196. [张甫英, 李辛夫. 低 pH 对鱼类胚胎发育、鱼苗生长及鳃组织损伤影响的研究[J]. *水生生物学报*, 1992, 16(2): 175-182, 196.]
- [5] Zhou J, Wang W N, Wang A L, et al. Glutathione S-transferase in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*: Characterization and regulation under pH stress[J]. *Comparative Biochem Physiol C*, 2009, 150(2): 224-230.
- [6] Zhang P D, Zhang X M, Li J, et al. The effects of body weight, temperature, salinity, pH, light intensity and feeding condition on lethal DO levels of whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)[J]. *Aquaculture*, 2006, 256(1-4): 579-587.
- [7] Yao Z L, Wang H, Zhou K, et al. Effects of water carbonate alkalinity and pH on survival rate of post-larval *Litopenaeus vannamei*[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2010, 29(5): 945-950. [么宗利, 王慧, 周凯, 等. 碳酸盐碱度和 pH 值对凡纳滨对虾仔虾存活率的影响[J]. *生态学杂志*, 2010, 29(5): 945-950.]
- [8] Vinatea L, Gálvez A O, Browdy C L, et al. Photosynthesis, water respiration and growth performance of *Litopenaeus vannamei* in a super-intensive raceway culture with zero water exchange: Interaction of water quality variables[J]. *Aquac Engin*, 2010, 42(1): 17-24.
- [9] Wang H, Lai Q F, Fang W H. Effect of saline-alkaline water resources on the development of fisheries in Cangzhou and Yundong[J]. *Hebei Fisheries*, 2003(5): 16-18. [王慧, 来琦芳, 房文红. 沧州运东地区盐碱水资源对开展渔业的影响[J]. *河北渔业*, 2003(5): 16-18.]
- [10] Zhanjiang Fisheries Highschool. *Freshwater Chemistry for Aquaculture*[M]. Beijing: Agriculture Press, 1999: 43-52. [湛江水产专科学校. *淡水养殖水化学*[M]. 北京: 农业出版社, 1993: 43-52.]
- [11] Liu J K. *Advanced Aquatic Biology*[M]. First ed. Beijing: Science Press, 1999: 146-147. [刘健康. *高级水生生物学*[M]. 第 1 版. 北京: 科学出版社, 1999: 146-147.]
- [12] Cai H J, Tang X X, Zhang P Y, et al. The effect of initial cell density on the interspecific competition between three species of red tide microalgae[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(6): 28-35. [蔡恒江, 唐学玺, 张培玉, 等. 不同起始密度对 3 种赤潮微藻种间竞争的影响[J]. *生态学报*, 2005, 25(6): 28-35.]
- [13] Chen K, Zhang Q Q, Shi H Y, et al. Calibration of phytoplankton numeration according to Utermöhl method[J]. *Marine Environmental Science*, 2007, 26(4): 383-385. [陈坤, 张前前, 史海燕, 等. 浮游植物计数方法比较研究[J]. *海洋环境科学*, 2007, 26(4): 383-385.]
- [14] Dong S N. The photosynthesis effect of plant under the water in the lake on DO and pH[J]. *Environmental Monitoring in China*, 1997, 13(5): 50-52. [董胜年. 湖泊中水下植物光合作用对溶解氧和 pH 值的影响[J]. *中国环境监测*, 1997, 13(5): 50-52.]
- [15] Peng C C, Li Z J, Cao Y C, et al. A review of water environment regulation by planktonic microalgae in shrimp ponds[J]. *South China Fisheries Science*, 2010, 6(5): 74-80. [彭聪聪, 李卓佳, 曹煜成, 等. 虾池浮游微藻与养殖水环境调控的研究概况[J]. *南方水产*, 2010, 6(5): 74-80.]
- [16] Brewer P G, Goldman J C. Alkalinity changes generated by phytoplankton growth[J]. *Limnol Oceanogr*, 1976, 21(1): 108-117.
- [17] López-Archilla A I, Moreira D, López-García P, et al. Phytoplankton diversity and cyanobacterial dominance in a hypereutrophic shallow lake with biologically produced alkaline pH[J]. *Extremophiles*, 2004, 8(2): 109-115.
- [18] Zhi Y L, Jin X C, Zhong Y, et al. Photosynthetic bicarbonate utilization by the freshwater green microalgae *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus*[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2008, 28(8): 1519-1525. [支彦丽, 金相灿, 钟远, 等. 淡水绿藻的光合碳酸氢盐利用探讨[J]. *环境科*

- 学学报, 2008, 28(8): 1519–1525.]
- [19] Talling J F. The depletion of carbon dioxide from lake water by phytoplankton[J]. J Ecol, 1976, 64(1): 79–121.
- [20] Azov Y. Effect of pH on inorganic carbon uptake in algal cultures[J]. Appl Environ Microbiol, 1982, 43(6): 1300–1306.
- [21] Gao K S. Research techniques and methods in characterizing photosynthetic carbon fixation by algae[J]. Marine Sciences, 1999, 23(6): 37–41. [高坤山. 藻类光合固碳的研究技术与解析方法[J]. 海洋科学, 1999, 23(6): 37–41.]
- [22] Lucas W J. Photosynthetic assimilation of exogenous HCO_3^- by aquatic plants[J]. Annu Rev Plant Physiol, 1983, 34(1): 71–104.
- [23] Miller A G, Colman B. Evidence for HCO_3^- transport by the blue-green alga (Cyanobacterium) *Coccochloris peniocyttis*[J]. Plant Physiol, 1980, 65(2): 397–402.
- [24] Zhi Y L, Chu Z S, Zhong Y, et al. Photosynthetic HCO_3^- utilization of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus quadricauda*[J]. Journal of Lake Sciences. 2008, 20(4): 443–449. [支彦丽, 储昭升, 钟远, 等. 铜绿微囊藻和四尾栅藻光合利用碳酸氢盐探讨[J]. 湖泊科学, 2008, 20(4): 443–449.]
- [25] Liu Y D, Fan X, Hu Z Y. China Algae Studies[M]. Wuhan: Wuhan Press, 2001: 243–254. [刘永定, 范晓, 胡征宇. 中国藻类学研究[M]. 武汉: 武汉出版社, 2001: 243–254.]
- [26] Zheng Z M, Bai P F, Lu K H, et al. Growth characteristics and competitive parameters of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus quadricauda* at different temperatures[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2008, 32(5): 720–728. [郑忠明, 白培峰, 陆开宏, 等. 铜绿微囊藻和四尾栅藻在不同温度下的生长特性及竞争参数计算[J]. 水生生物学报, 2008, 32(5): 720–728.]
- [27] Zhang Q T, Wang X H, Lin C, et al. Effects of temperature and illumination on the cell proliferation of *Microcystis aeruginosa*[J]. Journal of Tianjin University of Science & Technology, 2011, 26(2): 24–27. [张青田, 王新华, 林超, 等. 温度和光照对铜绿微囊藻生长的影响[J]. 天津科技大学学报, 2011, 26(2): 24–27.]
- [28] Wang J, Qiu L P, Meng S L, et al. Effect of temperature on growth and competition of *Chlorella vulgaris* and *ana-baena* sp. strain pcc[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2014, 38(6): 1127–1134. [王菁, 裴丽萍, 孟顺龙, 等. 温度对普通小球藻和鱼腥藻生长竞争的影响[J]. 水生生物学报, 2014, 38(6): 1127–1134.]
- [29] Zhang M, Zeng B, Wang M S, et al. The temperature elevation suppresses the light energy utilization and growth of *Chlorella pyrenoidosa* under high light intensity conditions[J]. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(2): 662–667. [张曼, 曾波, 王明书, 等. 温度升高对高光强环境下蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)光能利用和生长的阻抑效应[J]. 生态学报, 2007, 27(2): 662–667.]
- [30] Chen J Z, Liu Z L, Li X M, et al. Effects of temperature, pH, nitrogen and phosphorus on growth of *Microcystis aeruginosa*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2010, 41(5): 714–718. [陈建中, 刘志礼, 李晓明, 等. 温度、pH 和氮、磷含量对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)生长的影响[J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(5): 714–718.]
- [31] Xu H, Liu Z P, Yuan L, et al. Effect of pH on growth of several freshwater algae[J]. Environmental Science & Technology, 2009, 32(1): 27–30. [许海, 刘兆普, 袁兰, 等. pH 对几种淡水藻类生长的影响[J]. 环境科学与技术, 2009, 32(1): 27–30.]

Effects of *Microcystis aeruginosa* and *Chlorella pyrenoidosa* on water environment pH

SU Fawen^{1,2}, GAO Pengcheng¹, LAI Qifang¹, YAO Zongli¹, LU Jianxue¹, ZHOU Kai¹, ZHONG Qicheng¹, ZHENG Liang¹, WANG Hui¹

1. East China Sea Fisheries Research Institute, Engineering Research Center for Saline-alkali Water Fisheries, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: With the continuous development and utilization of saline-alkali land, increasing quantities of saline-alkali water are being used for fisheries. However, the high pH value of the saline-alkali water environment is always a major factor restricting such aquaculture. Previous studies have revealed that the water environment pH value is mainly a result of the impact of CO₂ balance system (CO₃²⁻-HCO₃⁻-CO₂); the CO₂ balance system and activities of algae are also closely related. *Microcystis aeruginosa* and *Chlorella pyrenoidosa*, two dominant microalgae species in saline-alkali aquaculture ponds, are of great importance in feed, nutrition and the aquaculture industry. Most studies have focused on the growth and reproduction of *M. aeruginosa* and *C. pyrenoidosa*, and only a few have reported on their relationship to the pH value of the water environment. In this study, an orthogonal experiment was designed to study the effects of temperature (20°C, 25°C and 30°C) and light intensity (2000 lx, 4000 lx and 6000 lx) on the regulation of environmental pH by the growth of *M. aeruginosa* and *C. pyrenoidosa*. The results showed that temperature, light intensity and their interactions had a significant effects on the pH value of the algal medium, and there was a clear increase in pH during the exponential growth phase of these species. The water environment pH value of the *M. aeruginosa* medium generally increased by more than 9.50 as that alga grew under various temperature and light intensity conditions. The highest pH value of this medium was observed at 2000 lx and 25°C. Under these conditions, the water environment pH value of the *M. aeruginosa* medium reached its maximum value of 10.83 on the 9th day and the maximum algal density of 1.1×10^7 cells/mL on the 10th day. The highest pH value of the *C. pyrenoidosa* medium was observed at 6000 lx and 30°C. With the temperature and light intensity increasing, the maximum pH value and algal density were 7.73 and 8.0×10^6 cells/mL, respectively, on the 10th day. ANCOVA analysis showed a positive correlation between pH value and density of algae in the water environment. The correlation coefficient R^2 of pH value and density of algae for *M. aeruginosa* was 0.904; R^2 for *C. pyrenoidosa* was 0.903. The growth of *M. aeruginosa* is much more likely to result in a higher pH water value than that of *C. pyrenoidosa* ($P < 0.01$). Results also shows that a high pH value in the water environment can promote *M. aeruginosa* growth, which can promote a further increase in pH value. This is one of the main reasons for the high pH in aquaculture ponds, which always affects the healthy development of aquaculture. The results of this research can help in the regulation of water quality in aquaculture ponds, avoiding higher water pH by algae control. Controlling the density of *M. aeruginosa* under the level of 2.0×10^6 cells/mL can help to reduce the pH value of the water environment, and this is important for ensuring that water is suitable for the growth of culture organisms. These results can provide data to support the subsequent research and provide a reference for the future studies.

Key words: *Microcystis aeruginosa*; *Chlorella pyrenoidosa*; temperature; light intensity; pH

Corresponding author: LAI Qifang. E-mail: laiqf@ecsf.ac.cn