

doi: 10.7541/2022.2021.0377

微囊藻对柔细束丝藻生长及土臭素合成与释放的影响

李晓宇^{1,2} 周维成^{1,2} 韦 慧^{1,2} 黄 顺^{1,2} 李敦海¹

(1. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 文章选择两种特征不同的微囊藻——产毒的铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)和无毒的惠氏微囊藻(*Microcystis wesenbergii*), 分别以不同的接种比例(1:2、1:1和2:1)与产土臭素(Geosmin)的柔细束丝藻(*Aphanizomenon gracile*)混合培养, 以探索种间相互作用对藻类生长和束丝藻土臭素合成与释放的影响。结果表明, 在共培养条件下, 两种微囊藻均抑制了柔细束丝藻的生长, 而柔细束丝藻却促进了两种微囊藻的生长。惠氏微囊藻促进了柔细束丝藻土臭素的释放(接种比例为1:1时, 束丝藻胞外土臭素的细胞份额达到269.43 fg/cell), 仅在生长早期与生长受到抑制阶段促进了土臭素的合成; 铜绿微囊藻在共培养早期促进了束丝藻土臭素的合成, 但共培养却抑制了土臭素的释放, 而且在共培养的中后期已检测不到土臭素。研究结果表明, 在自然水体中束丝藻与微囊藻的季节演替过程中, 微囊藻在与束丝藻的竞争处于优势, 且微囊藻对束丝藻的竞争压力促使后者合成异味物质, 随着束丝藻的消亡可能伴随大量异味物质的释放, 增加异味事件发生风险。

关键词: 异味物质; 土臭素; 种间相互作用; 束丝藻; 微囊藻

中图分类号: Q143⁺.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2023)07-1052-08



近几十年来, 我国湖泊富营养化问题日益严重, 导致蓝藻水华频繁发生。蓝藻水华的发生对当地的旅游业、工业、农业造成不同程度的负面影响。我国淡水水体中最常见的水华蓝藻主要是微囊藻属、束丝藻属、长胞藻属(*Dolichospermum*, 曾属于鱼腥藻属*Anabaena*)和浮丝藻属(*Planktothrix*)中的一些种类^[1]。尽管一些环境污染物也可能导致水华暴发, 但人为活动造成的水体富营养化及全球温度上升, 被认为是驱动淡水蓝藻水华暴发的主要原因^[2]。许多湖泊中存在蓝藻水华优势种群季节性演替现象^[3]。例如在云南省的滇池, 夏秋季微囊藻为水华优势种, 冬春季束丝藻则占优势地位^[4]。大量研究表明, 蓝藻种类季节性演替不仅受环境因素的影响^[5], 也受物种间相互作用的影响^[6]。有些浮游植物间的相互作用是通过分泌胞外有机物的方式影响种群演替^[7]。

蓝藻在生长周期中产生大量的次级代谢产物, 并在衰亡或受到外界条件影响时大量释放到环境中, 而其中一些蓝藻种类可以产生令人感到不适的

异味物质。水体中高浓度的异味物质不仅会造成饮用水污染事件, 对人类健康可能也具有潜在的威胁^[8]。土臭素(Geosmin)和二甲基异茨醇(2-methylisoborneol, 2-MIB)是最常见的导致饮用水异味的化合物^[9]。蓝藻中的束丝藻属和浮丝藻属等是水体中产生土霉味异味物质土臭素的主要种类^[10]。环境因素对蓝藻产生异味物质的影响已有大量报道。温度、光照强度和营养盐是影响藻类产生异味物质的重要因素^[11]。有研究报道, 长胞藻土臭素的产量与生物量的比值随光照强度变化而变化^[12, 13]。库氏鞘丝藻(*Lyngbya kuetzingii*)在10℃培养条件下产生的土臭素最多^[14]。低浓度的氮抑制长胞藻叶绿素a的合成, 但促进土臭素的产生^[15]。自然水体中藻类的生长环境极为复杂, 其除了受到非生物因素的影响外, 还受到种间相互作用等生物因素的影响。已有的研究主要关注于不同蓝藻的种间竞争对其生长等生理特性的影响^[16], 鲜有关于其异味化合物变化的研究。

束丝藻与微囊藻是富营养化湖泊中常见的发

收稿日期: 2021-12-15; 修订日期: 2022-08-25

基金项目: 国家重点研发计划(2019YFD0900603)资助 [Supported by the National Key Research and Development Program of China (2019YFD0900603)]

作者简介: 李晓宇(1997—), 女, 硕士研究生; 主要从事藻类环境生物学研究。E-mail: xiaoyu20211018@163.com

通信作者: 李敦海(1971—), 男, 博士, 研究员; 主要从事藻类环境生物学研究。E-mail: lidh@ihb.ac.cn

生季节演替现象的优势种属。例如, 近几十年来滇池每年夏秋季均暴发微囊藻水华, 而在冬春季, 浮游植物群落演替为束丝藻和长胞藻等^[4]。美国 Ford 湖每年 6—8 月发生束丝藻水华, 随后微囊藻迅速增殖占据主导地位^[17]。在黎巴嫩 Karaoun 湖也出现束丝藻水华与微囊藻水华交替发生的现象^[18]。柔细束丝藻已经成为我国淡水水体束丝藻的重要种类^[19], 而惠氏微囊藻和铜绿微囊藻是两种常见的水华微囊藻, 研究它们与束丝藻的相互作用及异味化合物的变化, 有助于我们了解驱动浮游植物群落季节演替的生物因素。

1 材料与方法

1.1 藻种来源和培养条件

本研究选择了两种常见的水华微囊藻——产毒的铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)和不产的惠氏微囊藻(*Microcystis wesenbergii*), 以及一株产异味但不产毒素的丝状水华蓝藻——柔细束丝藻(文中统称为束丝藻)为研究对象。铜绿微囊藻和惠氏微囊藻藻株均分离自云南滇池并保藏于中国科学院水生生物研究所淡水藻种库, 入库编号分别为 FACHB-908 和 FACHB-905。柔细束丝藻(*Aphanizomenon gracile*)分离于武汉市的一个喷泉公园水池。3 个藻株的来源与详细特性见表 1。藻株的培养条件为: 光照强度 20 μmol photons/(m²·s), 温度 (25±1)℃, 光-暗周期 L:D=12h:12h, 培养基为 BG11, 静置培养, 每天手动摇匀 3 次。

1.2 实验设计

开展 3 个藻株的单培养及束丝藻分别与两株微囊藻的共培养实验, 以研究种间相互作用对藻类生长和束丝藻产异味物质的影响。按照上述的培养条件, 将 3 株蓝藻培养至对数生长期后, 取两株微囊藻的部分培养物, 分别与部分束丝藻培养物接种至

表 1 本研究中使用的藻株及其特性

Tab. 1 Cyanobacterial strains and their characteristics used in this study

藻株 Strain	在本文中 缩写 Abbreviations used in the text	产毒素 特性 Toxin- producing characteris- tics	产异味化 合物特性 Odor- producing characteris- tics	分离 地点 Isolation location
铜绿微囊藻 <i>Microcystis aeruginosa</i>	M	产微囊藻毒素	不产土臭素	云南滇池
惠氏微囊藻 <i>Microcystis wesenbergii</i>	W	不产藻毒素	不产土臭素	云南滇池
柔细束丝藻 <i>Aphanizomenon gracile</i>	A	不产藻毒素	产土臭素	武汉公园水池

新鲜的 BG11 培养基中进行共培养。同时, 也分别接种柔细束丝藻、惠氏微囊藻和铜绿微囊藻至新鲜 BG11 培养基, 进行单培养作为对照。设置 3 种比例的共培养物, 即束丝藻与微囊藻的初始接种细胞密度比例分别约为 1:2、1:1 和 2:1, 接种后的初始藻类细胞总密度均为 1×10⁵ 个/mL(表 2)。在单培养时, 各藻株的初始接种藻细胞密度也为 1.0×10⁵ 个/mL。培养物体积为 1000 mL, 置于玻璃三角瓶中进行培养, 每种培养物均设置 3 个平行。培养条件同 1.1。

1.3 细胞计数及比生长速率计算

在培养开始后, 每隔 3 天取 2 mL 藻类培养物, 加入 1% 体积的鲁哥试剂固定 24 h 后, 用浮游植物计数框在显微镜下(Olympus CX41, 日本)进行计数。平行计数 3—5 次, 每次误差 <15%, 取平均值作为其细胞数。比生长速率(μ)的计算公式为: $\mu=(\ln C_t-\ln C_0)/(t_t-t_0)$, 式中 C_0 和 C_t 分别为实验初始时间(t_0)和预定时间间隔(t)时藻细胞的密度。

1.4 异味物质土臭素的测定

由于本实验中仅柔细束丝藻产生土臭素, 因此以其合成与释放为研究对象。采用顶空固相微萃取-气相色谱法进行异味物质分析。取 25 mL 培养物, 3500 r/min 离心 15 min, 取上清液置于 40 mL 的棕

表 2 单培养和共培养时各藻株的初始接种细胞密度

Tab. 2 Initial inoculation cell densities of each cyanobacterial strain in monocultures and co-cultures

培养模式 Culture condition	接种比例 Cell ratios	柔细束丝藻 (A)初始 接种细胞密 度 <i>A. gracile</i> initial cell density (×10 ⁵)	惠氏微囊藻 (W)初始 接种细胞密 度 <i>M. wesenbergii</i> initial cell density (×10 ⁵)	铜绿微囊藻 (M)初始 接种细胞密 度 <i>M. aeruginosa</i> initial cell density (×10 ⁵)
柔细束丝藻 单培养 <i>A. gracile</i> monocultured	A	1.0	0	0
惠氏微囊藻 单培养 <i>M. wesenbergii</i> monocultured	W	0	1.0	0
铜绿微囊藻 单培养 <i>M. aeruginosa</i> monocultured	M	0	0	1.0
柔细束丝藻 与惠氏微囊 藻共培养 <i>A. gracile</i> and <i>M. wesenbergii</i> co-cultured	A:W=1:2	0.33	0.67	0
	A:W=1:1	0.50	0.50	0
	A:W=2:1	0.67	0.33	0
柔细束丝藻 与铜绿微囊 藻共培养 <i>A. gracile</i> and <i>M. aeruginosa</i> co-cultured	A:M=1:2	0.33	0	0.67
	A:M=1:1	0.50	0	0.50
	A:M=2:1	0.67	0	0.33

色螺纹口瓶(CNW 24-400, 安谱)中, 进行顶空固相微萃取(HS-SPME), 用以测定培养物的胞外土臭素浓度。将离心后得到的藻细胞用超纯水洗出, 置于40 mL的棕色螺纹口瓶中, 加入超纯水补齐容积, 放入 -20°C 冰箱中反复冻融3次, 使藻细胞破碎, 释放出胞内异味物质进行胞内土臭素含量测定。土臭素用气相色谱仪(岛津GC-2014C, 日本)测定, 测定方法参考周维成等^[20]。土臭素总量为胞内土臭素含量与胞外土臭素含量之和。根据1.3中得到的细胞密度, 计算单个束丝藻细胞产生的胞外和胞内土臭素的量(fg/cell)。

1.5 数据处理

数据、图形处理分别利用 SPSS.20 (IBM, USA) 和 Origin 9 (Origin Lab, USA) 完成。显著性检验由 SPSS.20 进行单因素 ANOVA 检验, $P < 0.05$ 时表示差异显著, $P < 0.01$ 时表示差异极其显著。

2 结果

2.1 单培养和共培养条件下束丝藻的生长特征

相比于单培养, 与微囊藻共培养显著抑制了束丝藻的生长(图 1)。在分别与两种微囊藻共培养时, 束丝藻的细胞密度均在第7天达到最大值, 随后迅速下降, 在实验结束时共培养物中几乎检测不到束丝藻的存在。与惠氏微囊藻共培养时, 束丝藻的细胞密度均呈现先上升后下降趋势(图 1a)。初始接种比例为 A:W=1:1 的培养物, 其束丝藻的生物量在培养开始第16天后要比 A:W=1:2 和 A:W=2:1 的低。比生长速率方面(图 2a), 单培养物的比生长率一直为正值, 而初始接种比例为 A:W=1:1 的培养物, 其束丝藻的比生长速率在第16和第28天均显著低于其他处理组($P < 0.05$)。束丝藻与铜绿微囊藻共培养时的细胞密度(图 1b)和比生长速率(图 2b)的变化趋势与上述惠氏微囊藻共培养时相似。图 3 给出了束丝藻在单培养与共培养下培养物中总土臭素浓度变化情况。在单培养下土臭素含量在束丝藻接种后出现对应的增加, 增加趋势与藻细胞密度保持一致。在束丝藻与惠氏微囊藻共培养条件下, 培养物中土臭素分别第10和第13天达到最大值, 随后缓慢下降(图 3a)。在束丝藻与铜绿微囊藻共培养时13d后检测不到土臭素(图 3b)。

2.2 单培养和共培养条件下两种微囊藻的生长状况

无论是单培养还是与束丝藻共培养, 两种微囊藻的细胞密度随着培养时间延长均呈现逐渐上升趋势(图 4)。虽然单培养惠氏微囊藻的初始接种细胞密度要远高于其与束丝藻的共培养物, 但第25天后其细胞密度显著较共培养物中的低($P < 0.05$; 图 4a)。

从比生长速率来看(图 5a), 随着束丝藻初始接种比例的增加, 惠氏微囊藻比生长速率呈现逐渐下降趋势。在共培养物中惠氏微囊藻的比生长速率在第16和第28天均显著高于单培养的($P < 0.05$), 但不同共培养物之间的差异不显著($P > 0.05$)。

在铜绿微囊藻单培养及其与束丝藻的共培养物中, 当初始接种比例为 A:M=1:2 和 1:1 时, 铜绿微囊藻的细胞密度在培养22d后显著高于单培养物($P < 0.05$; 图 4b)。当初始接种比例 A:M=2:1 时, 共培养物中铜绿微囊藻的细胞密度始终低于单培养物。随着共培养体系中束丝藻的接种比例增加, 铜绿微囊藻的比生长速率整体呈现逐渐上升趋势(图 5b)。共培养物中铜绿微囊藻的比生长速率在第16和第28天均显著高于单培养物($P < 0.05$)。

2.3 不同培养体系中束丝藻产生胞外土臭素的变化

与惠氏微囊藻共培养显著促进了束丝藻胞外土臭素的细胞份额(即释放), 且单培养束丝藻的胞外土臭素细胞份额(fg/cell)一直较低(图 6a)。在共培养物中束丝藻的胞外土臭素细胞份额在前13天

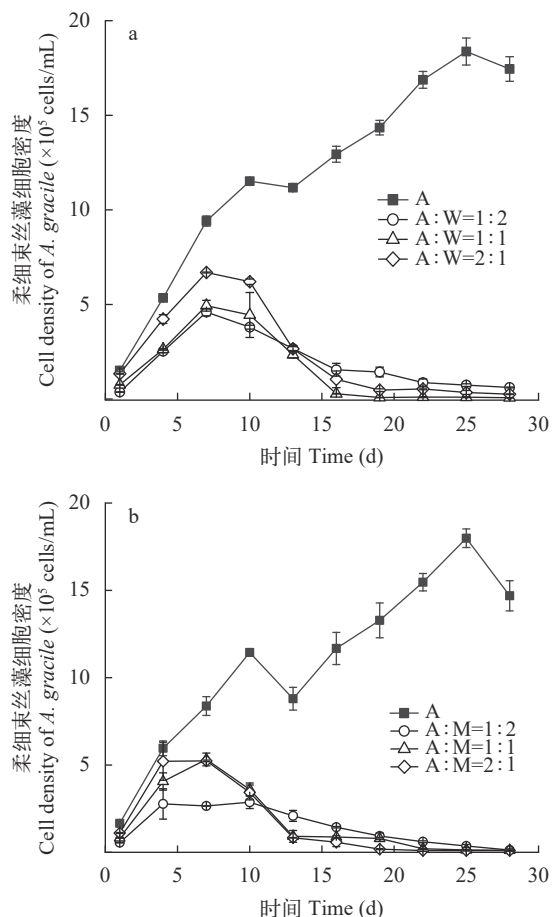


图 1 柔细束丝藻在单培养及其分别与惠氏微囊藻(a)和铜绿微囊藻(b)共培养物中的生长情况

Fig. 1 Growth of *A. gracile* in monoculture and in its respective co-cultures with *M. wesenbergii* (a) and *M. aeruginosa* (b)

处于较低水平, 其后显著上升并高于单培养物($P < 0.01$)。总体上, 初始接种物比例为A:W=1:1的培养物, 其单细胞胞外土臭素产量显著高于A:W=1:2和2:1组($P < 0.01$), 共培养物中A:W=1:2组的最低。

相反, 与铜绿微囊藻共培养抑制了柔细束丝藻的土臭素释放, 单培养束丝藻的胞外土臭素细胞份额整体较共培养的高(图 6b)。随着培养时间的延长, 单培养束丝藻的胞外土臭素细胞份额逐渐上升, 而共培养物中的却呈下降趋势, 且不同初始接种比例培养物之间的差异不显著($P > 0.05$)。第13天后, 共培养物中土臭素的胞外含量低于仪器检测限。

2.4 不同培养体系中束丝藻胞内土臭素含量的变化

束丝藻在单培养和与惠氏微囊藻共培养条件下其胞内土臭素的细胞份额(fg/cell)变化如图 7a所示。在整个培养期, 单培养束丝藻的胞内土臭素细胞份额变化不大, 而共培养物中束丝藻胞内土臭素的细胞份额则均呈现先上升后下降趋势。初始接种比例为A:W=2:1的共培养物, 其束丝藻胞内土臭素的细胞份额在第19天达到最大值7.55 fg/cell。在生长期的前10天, 各共培养物束丝藻胞内土臭素的细胞份额之间的差异并不显著($P > 0.05$)。第7和第10天, 共培养物中束丝藻的胞内土臭素细胞份额显著高于单培养的束丝藻($P < 0.05$)。第22天起, A:W=

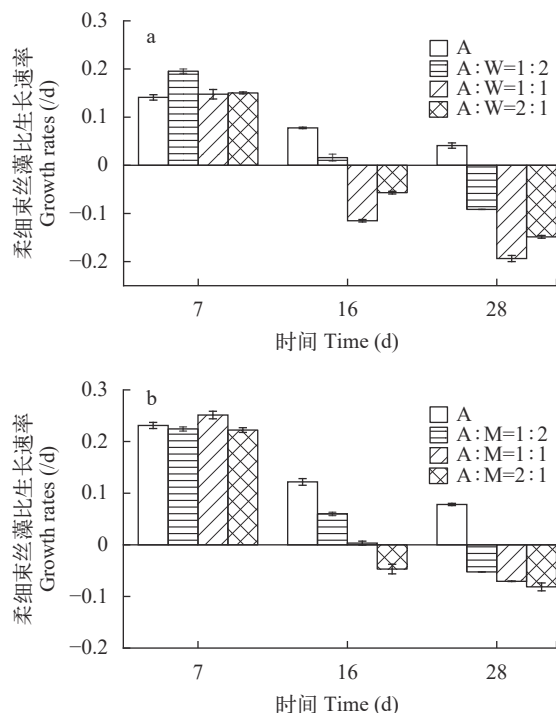


图2 柔细束丝藻在单培养及其分别与惠氏微囊藻(a)和铜绿微囊藻(b)共培养物中的比生长速率

Fig. 2 Specific growth rates of *A. gracile* in monoculture and in its respective co-cultures with *M. wesenbergii* (a) and *M. aeruginosa* (b)

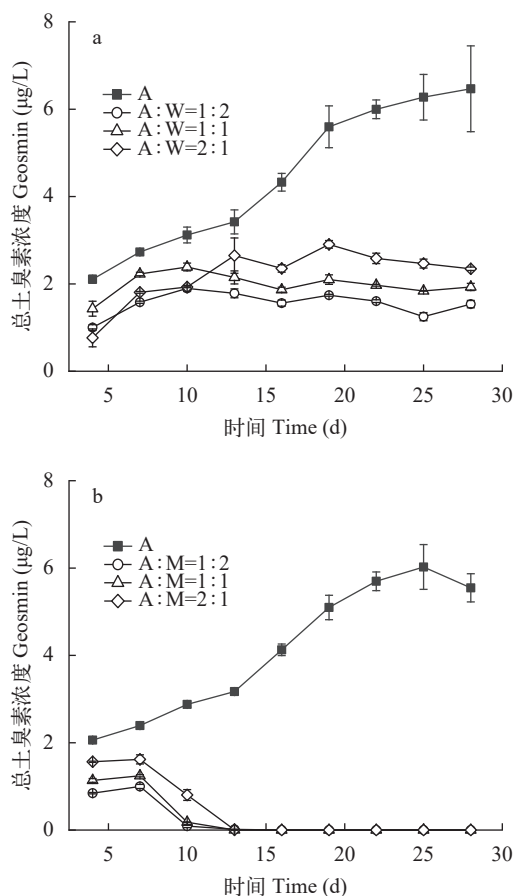


图3 柔细束丝藻在单培养及其分别与惠氏微囊藻(a)和铜绿微囊藻(b)共培养物中土臭素总浓度变化

Fig. 3 Geosmin production of *A. gracile* in monoculture and in its respective co-cultures with *M. wesenbergii* (a) and *M. aeruginosa* (b)

1:1共培养物的束丝藻胞内土臭素细胞份额显著高于其他处理组($P < 0.05$)。

在生长期的前7天, 相比于单培养的束丝藻, 与铜绿微囊藻共培养促进了束丝藻胞内土臭素的细胞份额($P < 0.05$)。第10天, 只有A:M=2:1的培养物其束丝藻胞内土臭素细胞份额显著高于单培养物($P < 0.05$), 其后, 共培养物中束丝藻胞内土臭素的含量低于仪器检测限(图 7b)。

3 讨论

3.1 微囊藻对束丝藻生长的抑制作用

在富营养化水体中, 往往会发生水华出现又消退的现象, 甚至某些优势种会随着季节而周期性交替变化。近年来, 滇池中出现束丝藻与微囊藻交替占优势的现象^[4]。相关研究表明微囊藻对束丝藻的生长存在抑制作用。Ma等^[21]将滇池分离的束丝藻与5种微囊藻用透析袋共培养发现, 微囊藻对束丝藻的生长产生强烈的抑制作用。顾启华等^[22]发现铜绿微囊藻、长胞藻、水华束丝藻共培养时, 束丝

藻被完全抑制。本研究同样发现束丝藻与微囊藻共培养时其生长受到抑制作用。在束丝藻与微囊藻共培养时,无论初始接种细胞密度的比例如何,微囊藻总是最终占优势,这可能与单培养时它们自身生长速率差异、共培养过程中营养盐的竞争能力及两种藻类产生的次级代谢产物相关。在单培养条件下,束丝藻的最高生物量和比生长速率均低于两种微囊藻,这说明在25℃的实验条件下束丝藻与两种微囊藻相比,生长并不占优势,这一结果与李晓明等^[23]的研究结果一致。不同营养盐浓度对束丝藻的生长状况也存在影响。滇池微囊藻水华发生时N:P较高,束丝藻水华发生时N:P较低^[18]。 NO_3^- 浓度对束丝藻和微囊藻水华的动态影响较大^[17]。研究表明,蓝藻和细菌等能够产生对其他物种具有抑制或促进作用的次生代谢产物^[24, 25]。胡智泉等^[26]发现微囊藻毒素能够抑制束丝藻的生长,证实微囊藻分泌化感物质诱导束丝藻细胞死亡。蓝藻在死

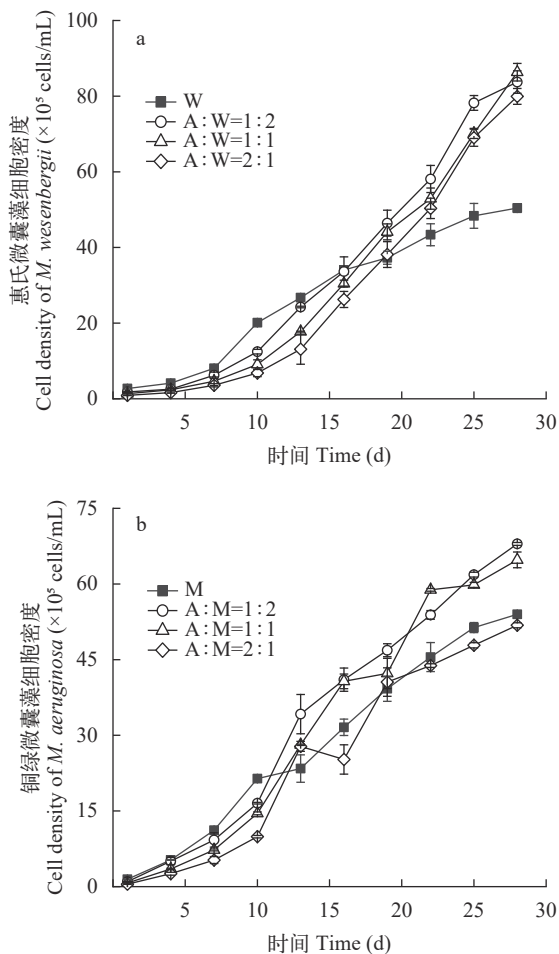


图4 惠氏微囊藻(a)和铜绿微囊藻(b)在单培养及其分别与柔细束丝藻共培养物中的生长状况

Fig. 4 Growth of *M. wesenbergii* (a) and *M. aeruginosa* (b) in monocultures and in their respective co-cultures with *A. gracile*

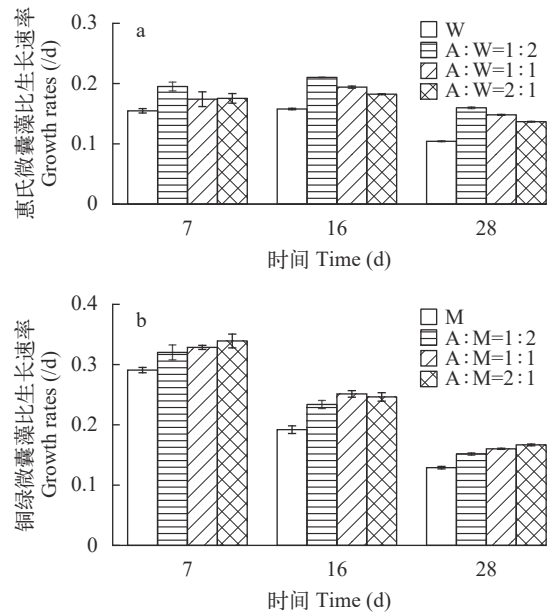


图5 惠氏微囊藻(a)和铜绿微囊藻(b)在单培养及其分别与柔细束丝藻共培养物中的比生长速率

Fig. 5 Specific growth rates of *M. wesenbergii* (a) and *M. aeruginosa* (b) in monocultures and in their respective co-cultures with *A. gracile*

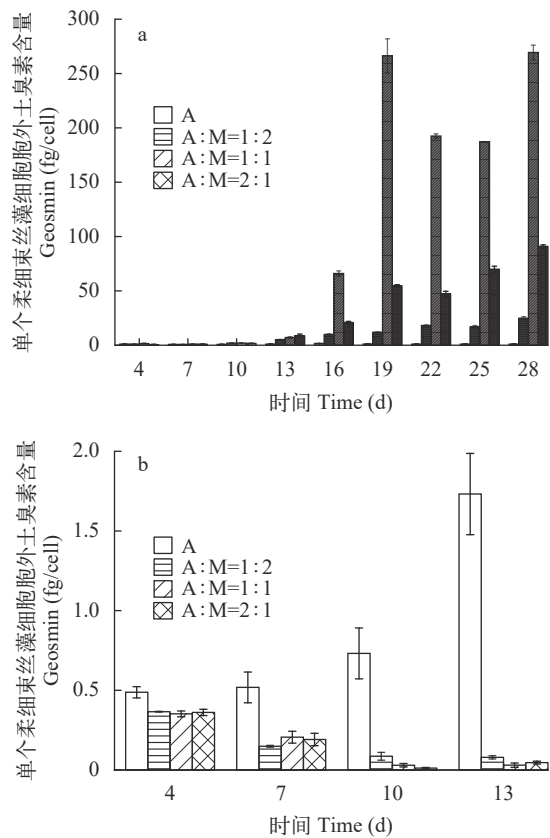


图6 柔细束丝藻在单培养及其分别与惠氏微囊藻(a)和铜绿微囊藻(b)共培养条件下胞外土臭素的细胞份额

Fig. 6 The cell quota of extracellular geosmin produced by *A. gracile* in its monoculture and in its respective co-cultures with *M. wesenbergii* (a) and *M. aeruginosa* (b)

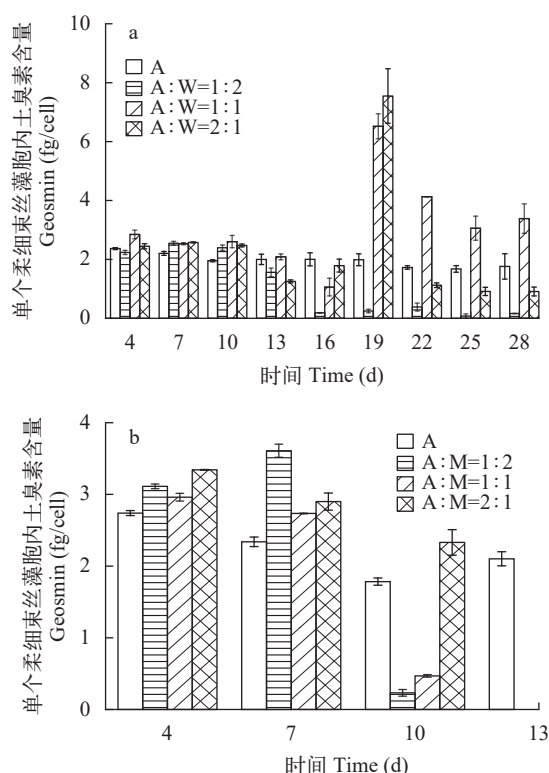


图7 柔细束丝藻单培养及其分别与惠氏微囊藻(a)和铜绿微囊藻(b)共培养条件下产胞内土臭素的细胞份额

Fig. 7 The cell quota of intracellular geosmin produced by *A. gracile* in its monoculture and in its respective co-cultures with *M. wesenbergii* (a) and *M. aeruginosa* (b)

亡分解过程会释放大量营养盐^[27]。微囊藻在共培养时生物量高于单培养,这可能与微囊藻在共培养时利用束丝藻细胞裂解释放的营养物质进行生长有关。

3.2 微囊藻对束丝藻土臭素合成与释放的影响

土臭素作为某些蓝藻种类产生的代谢产物,其所导致的臭味已成为饮用水安全问题之一。土臭素的合成与释放受多种因素如温度、光照强度和营养盐等的影响。本研究设置的培养光照强度与温度[20 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、25℃]均适宜束丝藻产生土臭素^[20]。因此在本研究中,温度与光照强度可能不是影响土臭素积累的关键因素。在不同初始接种比例共培养下,束丝藻与微囊藻的生长状况与细胞密度在培养过程中发生变化,这可能导致束丝藻合成土臭素的差异。这与前人的研究一致,即蓝藻藻株的生长状况影响其产生土臭素的含量^[28]。对不同光照条件下产土臭素的镰头颤藻(*Oscillatoria brevis*)的研究表明,土臭素产量同藻株生长状况呈正相关关系^[20]。然而一些研究结论倾向于土臭素的合成与藻株生长状况呈现负相关关系。对假鱼腥藻和乌克兰鱼腥藻的研究表明,不利的生长条

件会增加土臭素的产量^[28]。氮元素限制或过量对产异味蓝藻的影响实验表明,土臭素产量与生物量(叶绿素 a)存在负相关关系^[29,30]。在本研究中,束丝藻与惠氏微囊藻共培养时,其土臭素的胞内细胞份额显著高于单培养时。这意味着束丝藻在与微囊藻竞争时面临的生存压力促使其细胞合成更多的土臭素。本研究的结果则证实,束丝藻土臭素的合成与其生长状态呈现负相关关系。同时,共培养物中的营养物质低于对照组,较低的营养物质同样可能促使束丝藻产生更多的土臭素。

与单培养相比,共培养时束丝藻土臭素的释放有较大差异。共培养物中土臭素总量在束丝藻生物量达到最大时仍呈现上升趋势,在生物量减少期间,土臭素分泌到胞外的量显著增加。Ozaki等^[31]研究发现土臭素在高浓度下对微囊藻细胞具有裂解作用。倍半萜化合物一般被认为是一类可以使生物体免受其他生物侵害的化感物质^[28]。Ikawa等^[32]的研究表明,蓝藻分泌的部分异味化合物如土臭素等对蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)有明显的抑制作用。因此处于逆境的藻细胞在竞争压力较大的情况下,可能试图通过提高异味物质的胞外浓度来抑制其他藻类。然而在束丝藻与产毒的铜绿微囊藻共培养时,释放出的土臭素显著低于单培养,这可能与铜绿微囊藻产生的微囊藻毒素相关。在束丝藻与有毒微囊藻共培养时,微囊藻产生较多的微囊藻毒素^[21]。相关调查表明巢湖中土臭素含量与微囊藻毒素呈现负相关关系^[33]。

综上所述,两种微囊藻均能对柔细束丝藻的生长产生抑制作用。在共培养的过程中,惠氏微囊藻与柔细束丝藻接种比例为1:1时,柔细束丝藻产生更多的土臭素并释放到环境中。在铜绿微囊藻与柔细束丝藻初始接种比例为2:1的共培养物中,柔细束丝藻单个细胞内产生相比于单种培养更多的土臭素。这说明当束丝藻与微囊藻水华发生季节演替或共存于水体中时,异味事件发生风险较大。饮用水异味问题越来越被关注^[34],水源地中往往存在较为复杂的藻类群落结构及其次级代谢产物,异味物质可能是藻类群落演替的关键^[7]。因此,探索自然水体中不同藻类及其代谢产物共存的群落结构具有重要意义。

参考文献:

- [1] Huo D, Gan N Q, Geng R Z, et al. Cyanobacterial blooms in China: diversity, distribution, and cyanotoxins [J]. *Harmful Algae*, 2021(109): 102106.
- [2] Huisman J, Codd G A, Paerl H W, et al. Cyanobacterial

- blooms [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, **16**(8): 471-483.
- [3] McDonald K E, Lehman J T. Dynamics of *Aphanizomenon* and *Microcystis* (cyanobacteria) during experimental manipulation of an urban impoundment [J]. *Lake and Reservoir Management*, 2013, **29**(2): 103-115.
- [4] Li L J, Li G H, Li G B. Winter and spring succession of the phytoplankton community in Dianchi Lake under the influences of environment change [J]. *Journal of Hydroecology*, 2020, **41**(3): 57-68. [李莉杰, 李国辉, 李根保. 环境条件变化下滇池冬春季浮游植物的演替特征 [J]. *水生生态学杂志*, 2020, **41**(3): 57-68.]
- [5] Yang J W, Tang H X, Zhang X X, *et al.* High temperature and pH favor *Microcystis aeruginosa* to outcompete *Scenedesmus obliquus* [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2018, **25**(5): 4794-4802.
- [6] Liu L M, Chen H H, Liu M, *et al.* Response of the eukaryotic plankton community to the cyanobacterial biomass cycle over 6 years in two subtropical reservoirs [J]. *The ISME Journal*, 2019, **13**(9): 2196-2208.
- [7] Arai S, Yamashita R, Tsuji K, *et al.* Differences in susceptibility of cyanobacteria species to lytic volatile organic compounds and influence on seasonal succession [J]. *Chemosphere*, 2021(284): 131378.
- [8] Smith K, Zhang X, Hofmann R. Assessment of alternate characterization tests for prediction of taste and odour control by granular activated carbon [J]. *Water Supply*, 2012, **12**(4): 531-539.
- [9] Butakova E A. Specific features of odor-causing compounds (geosmin and 2-methylisoborneol) as secondary metabolites of cyanobacteria [J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2013, **60**(4): 507-510.
- [10] Churro C, Semedo-Aguir A P, Silva A D, *et al.* A novel cyanobacterial geosmin producer, revising GeoA distribution and dispersion patterns in Bacteria [J]. *Scientific Reports*, 2020(10): 8679.
- [11] Lee J, Rai P K, Jeon Y J, *et al.* The role of algae and cyanobacteria in the production and release of odorants in water [J]. *Environmental Pollution*, 2017(227): 252-262.
- [12] Oh H S, Lee C S, Srivastava A, *et al.* Effects of environmental factors on cyanobacterial production of odorous compounds: geosmin and 2-methylisoborneol [J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2017, **27**(7): 1316-1323.
- [13] Yu J W, Chen K Y, Su M, *et al.* Influence of nutrient sources on *Anabaena spiroides* growth and odorous compounds production characteristics [J]. *Environmental Science*, 2011, **32**(8): 2254-2259. [于建伟, 陈克云, 苏命, 等. 不同营养源条件下螺旋鱼腥藻生长与产嗅特征研究 [J]. *环境科学*, 2011, **32**(8): 2254-2259.]
- [14] Zhang T, Li L, Zheng L L, *et al.* Effects of nutritional factors on the geosmin production of *Lyngbya kuetzingii* UTEX 1547 (Oscillatoriales, Cyanobacteria) [J]. *Phycologia*, 2017, **56**(2): 221-229.
- [15] Saadoun I M K, Schrader K K, Blevins W T. Environmental and nutritional factors affecting geosmin synthesis by *Anabaena* sp. [J]. *Water Research*, 2001, **35**(5): 1209-1218.
- [16] Nolan M P, Cardinale B J. Species diversity of resident green algae slows the establishment and proliferation of the Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* [J]. *Limnologia*, 2019(74): 23-27.
- [17] Lehman E M, McDonald K E, Lehman J T. Whole Lake selective withdrawal experiment to control harmful cyanobacteria in an urban impoundment [J]. *Water Research*, 2009, **43**(5): 1187-1198.
- [18] Wu Y L, Li L, Zheng L L, *et al.* Patterns of succession between bloom-forming cyanobacteria *Aphanizomenon flos-aquae* and *Microcystis* and related environmental factors in large, shallow Dianchi Lake, China [J]. *Hydrobiologia*, 2016, **765**(1): 1-13.
- [19] Wu Z X, Zeng B, Li R H, *et al.* Morphological and physiological characteristics and common *Aphanizomenon* types in Chinese water bodies [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2012, **36**(2): 323-328. [吴忠兴, 曾波, 李仁辉, 等. 中国淡水水体常见束丝藻种类的形态及生理特性研究 [J]. *水生生物学报*, 2012, **36**(2): 323-328.]
- [20] Zhou W C, Wang S Q, Gao X, *et al.* Effects of temperature and light on production of three odorous compounds by *Aphanizomenon gracile* [J]. *Journal of Hydroecology*, 2015, **36**(4): 78-85. [周维成, 王素钦, 高翔, 等. 温度与光强对柔细束丝藻3种异味物质产量的影响 [J]. *水生生态学杂志*, 2015, **36**(4): 78-85.]
- [21] Ma H Y, Wu Y L, Gan N Q, *et al.* Growth inhibitory effect of *Microcystis* on *Aphanizomenon flos-aquae* isolated from cyanobacteria bloom in Lake Dianchi, China [J]. *Harmful Algae*, 2015(42): 43-51.
- [22] Gu Q H, Zhao L, Tan X. Studies on competition predominance of *Microcystis aeruginosa*, *Anabaena spiroides* and *Aphanizomenon flos-aquae* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2007, **35**(7): 1990-1991. [顾启华, 赵林, 谭欣. 铜绿微囊藻-螺旋鱼腥藻和水华束丝藻竞争优势的研究 [J]. *安徽农业科学*, 2007, **35**(7): 1990-1991.]
- [23] Li X M, Wang X Y, Fan W H. Comparison of nutrient removal from wastewater and lipid accumulation with *Aphanizomenon flos-aquae* and *Microcystis aeruginosa* [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2015, **9**(6): 2795-2801. [李晓敏, 王兴玥, 范文宏. 水华束丝藻与铜绿微囊藻净化水体氮磷及其脂质积累过程比较 [J]. *环境工程学报*, 2015, **9**(6): 2795-2801.]
- [24] Pereira A L, Santos C, Azevedo J, *et al.* Effects of two toxic cyanobacterial crude extracts containing microcystin-LR and cylindrospermopsin on the growth and photosynthetic capacity of the microalga *Parachlorella kessleri* [J]. *Algal Research*, 2018(34): 198-208.
- [25] Zuo Z J, Yang Y Y, Xu Q H, *et al.* Effects of phosphorus sources on volatile organic compound emissions from *Microcystis flos-aquae* and their toxic effects on *Chlamydo-*

- monas reinhardtii* [J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 2018, **40**(4): 1283-1298.
- [26] Hu Z Q, Li D H, Xiao B, *et al.* Microcystin-RR induces physiological stress and cell death in the cyanobacterium *Aphanizomenon* sp. DC01 isolated from Lake Dianchi, China [J]. *Fundamental and Applied Limnology*, 2008, **173**(2): 111-120.
- [27] Yan X C, Xu X G, Wang M Y, *et al.* Climate warming and cyanobacteria blooms: looks at their relationships from a new perspective [J]. *Water Research*, 2017(125): 449-457.
- [28] Wang Z J. The studies on genes responsible for synthesis of earthy-musty odorants in cyanobacteria and their ecological application [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2012: 103-104. [王中杰. 蓝藻土霉异味物质合成基因的研究及其生态应用 [D]. 北京: 中国科学院大学, 2012: 103-104.]
- [29] Dzialowski A R, Smith V H, Huggins D G, *et al.* Development of predictive models for geosmin-related taste and odor in Kansas, USA, drinking water reservoirs [J]. *Water Research*, 2009, **43**(11): 2829-2840.
- [30] Shen Q Y, Shimizu K, Miao H C, *et al.* Effects of elevated nitrogen on the growth and geosmin productivity of *Dolichospermum smithii* [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2021, **28**(1): 177-184.
- [31] Ozaki K, Ohta A, Iwata C, *et al.* Lysis of cyanobacteria with volatile organic compounds [J]. *Chemosphere*, 2008, **71**(8): 1531-1538.
- [32] Ikawa M, Sasner J J, Haney J F. Activity of cyanobacterial and algal odor compounds found in lake waters on green alga *Chlorella pyrenoidosa* growth [J]. *Hydrobiologia*, 2001, **443**(1/2/3): 19-22.
- [33] Shang L X, Feng M H, Xu X G, *et al.* Co-occurrence of microcystins and taste-and-odor compounds in drinking water source and their removal in a full-scale drinking water treatment plant [J]. *Toxins*, 2018, **10**(1): 26.
- [34] Mustapha S, Tijani J O, Ndamitso M M, *et al.* A critical review on geosmin and 2-methylisoborneol in water: sources, effects, detection, and removal techniques [J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2021, **193**(4): 204.

MICROCYSTIS ON THE GROWTH AND THE SYNTHESIS AND RELEASE OF GEOSMIN IN APHANIZOMENON GRACILE

LI Xiao-Yu^{1,2}, ZHOU Wei-Cheng^{1,2}, WEI Hui^{1,2}, HUANG Shun^{1,2} and LI Dun-Hai¹

(1. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: *Aphanizomenon* and *Microcystis* are common dominant genera of bloom-forming cyanobacteria, and they have seasonal succession in some lakes. *Aphanizomenon gracile* is the most common *Aphanizomenon* species in Chinese freshwater bodies which can produce odor substance geosmin. The effects of the interspecific interaction between *Microcystis* and *Aphanizomenon* on the cell growth and the synthesis and release of geosmin are not clear. In this paper, two *Microcystis* species with different characteristics, toxic *Microcystis aeruginosa* and non-toxic *Microcystis wesenbergii*, were respectively co-cultured with geosmin producing *Aphanizomenon gracile* at different initial inoculation ratios (1:2, 1:1 and 2:1) to explore the effects of interspecific interaction on algae growth and geosmin synthesis and release. The results showed that both *Microcystis* species inhibited the growth of *Aphanizomenon*, but the latter promoted the growth of the formers. *Microcystis wesenbergii* promoted the release of geosmin (when the initial inoculation ratio was 1:1, the extracellular geosmin reached 269.43 fg/cell), and promoted the synthesis of geosmin only in the early and late growth stages; *Microcystis aeruginosa* promoted the synthesis of geosmin at the early stage of co-culture, but co-culture inhibited the release of geosmin, and geosmin was not detected in the middle and late stages of co-culture. Our research results showed that during the seasonal succession of *Aphanizomenon* and *Microcystis* in natural water bodies, *Microcystis* has an advantage in the competition with *Aphanizomenon*, and the competitive pressure of *Microcystis* on *Aphanizomenon* urges it to synthesize odor substances. As the *Aphanizomenon* decays, it may be accompanied by the release of a large amount of odor substances, which increases the risk of odor events.

Key words: Odorous compounds; Interspecific interaction; Geosmin; *Aphanizomenon*; *Microcystis*