DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2017060403

陈泽慧,高志伟,董小娜,等.藻毒素降解菌 CQ5 对 MC-LR 粗提液的降解动力学[J].环境化学,2018,37(1):82-88. CHEN Zehui, GAO Zhiwei, DONG Xiaona, et al. Degradation kinetics of MC-LR crude extracts by strain CQ5[J].Environmental Chemistry, 2018,37(1):82-88.

藻毒素降解菌 CQ5 对 MC-LR 粗提液的降解动力学*

陈泽慧 高志伟 董小娜 苏 鹏 毛林强 张文艺 1**

(1. 常州大学环境与安全工程学院,常州,213164; 2. 常州市天宁区郑陆镇工业和科技环保服务中心,常州,213000)

摘 要 针对近年来采用微生物法降解水体中的微囊藻毒素(microcystins, MCs)这一研究热点问题,以本课 题组前期从太湖芦苇荡底泥中筛出的耐硼赖氨酸芽孢杆菌 CQ5(*Lysinibacillus boronitolerans*)为考察对象,研究 微生物对 MC-LR 的降解动力学.分别采用 Logistic 生长方程和 Monod 动力学方程构建菌株 CQ5 细胞生长动力 学模型和 MC-LR 降解动力学模型.结果表明,菌株 CQ5 在以 MC-LR 粗提液为碳、氮源的无机盐培养基中的生 长曲线符合 Logistic 生长模型,其中菌株生长环境承载量 K 为 1.306,菌株生长平均速率 r 为 0.1685,无量纲参 数 a 为 1.688;该菌株在 6 d 内可使 MC-LR 的浓度由 14.12 µg·L⁻¹降至 1.57 µg·L⁻¹,降解率达 88.86%,其一级 反应速率常数 k 为 0.3698,半衰期 $t_{1/2}$ 为 1.88 d;该降解过程中 MC-LR 浓度、菌株细胞密度和 MC-LR 降解速率 3 者间的偶合关系符合低浓度下的 Monod 模型,其中 v_{max}/K_s 为 0.342;一级反应动力学方程式 $S = e^{2648-0.3698t}$ 和 Monod 模型方程式 $S = 14.12e^{-0.342Nt}$ (N=1.08)均可模拟预测降解体系中的 MC-LR 浓度,二者的模拟结果 高度一致.本文可为研究微生物降解 MC-LR 的机理和推动 MC-LR 降解菌的工程应用提供理论参考. 关键词 MC-LR 粗提液,降解动力学, Logistic 模型,一级反应方程, Monod 模型.

Degradation kinetics of MC-LR crude extracts by strain CQ5

CHEN Zehui¹ GAO Zhiwei² DONG Xiaona¹ SU Peng¹ MAO Linqiang¹ ZHANG Wenyi^{1**} (1. School of Environmental & Safety Engineering, Changzhou University, Changzhou, 213164, China;

2. Zhenglu Industrial and Technology Environmental Protection Service Center, Tianning District, Changzhou, 213000, China)

Abstract: Microcystin-LR (MC-LR) is the most common and studied variant of microcystins (MCs), which have drawn increasing environmental concerns worldwide. In this study, a bacterial strain CQ5 was investigated from the sediments sampled from Taihu Lake and the biodegradation kinetics of MC-LR by strain CQ5 were investigated. Logistic growth model and Monod kinetics model were used to establish the CQ5 cell growth kinetics model and MC-LR degradation kinetics model, respectively. The results showed that strain CQ5 was capable of utilizing MC-LR as carton and nitrogen source for growth. The growth curve of strain CQ5 fitted with the Logistic growth model, where K was 1.306, r was 0.1685 and the dimensionless parameter a was 1.688. The concentration of MC-LR was reduced from 14.12 μ g·L⁻¹ to 1.57 μ g·L⁻¹ and the degradation rate was 88.86% within 6 days. The degradation process agreed with the first-order reaction kinetics equation, where k was 0.3698 and half-time $t_{1/2}$ was 1.88 d. The linkage relationship between MC-LR concentration, cell density and MC-LR degradation rate was consistent with the Monod model at low concentration,

* * 通讯联系人,Tel:13915046002,E-mail: zwy@cczu.edu.cn Corresponding author, Tel:13915046002, E-mail: zwy@cczu.edu.cn

²⁰¹⁷年6月4日收稿(Received: June 4, 2017).

^{*}国家自然科学基金(41571471),江苏省和常州市科技支撑项目(BE2016653,WS201621)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China (41571471), Science and Technology Project of Jiangsu Province and Changzhou City(CE20155061, WS201621).

where $V_{\text{max}}/K_{\text{s}}$ was 0.342. The first-order reaction kinetics equation was $S = e^{2.648-0.3698t}$ and the Monod model equation was $S = 14.12e^{-0.342Nt}$ (N = 1.08). They could be employed to simulate and predict the growth of strain CQ5 and the MC-LR concentration in degradation system. And their predicted results were highly consistent. These results could provide theoretical reference for studying the mechanism of MC-LR biodegradation and promoting the engineering application of bacteria which could degrade MC-LR.

Keywords: MC-LR crude extract, degradation kinetics, Logistic model, first-order reaction equation, Monod model.

近年来,生物降解作为 MCs 环境归趋的主要途径之一^[1],因其安全高效且符合生态修复理念,引起研究热潮.1994年 Jones 等^[24]首次从澳大利亚天然河流中分离出一株具有 MC-LR 降解能力的鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*, ACM-3962),并从酶学和基因分子层面探明其降解途径;2001年 Park 等^[5]从天然水体中分离出一株可高效降解 MC-LR 和 MC-RR 的新菌种 Y2,并对不同 MC-LR、MC-RR 初始浓度下的降解率进行线性拟合,发现在 MC-LR、MC-RR 浓度为 4—18 mg·L⁻¹范围内降解率增长与浓度呈比例关系;2007年杨力力^[6]采用 Logisitie 生长方程描述太湖、滇池沉积物降解 MC-LR 过程中降解率随时间的 "S"形变化,推测 MC-LR 的降解过程与微生物生长密切相关;2013年赵爽等^[1]分离出一株鞘氨醇单胞菌(*Sphingopyxis* sp, SW1),具有较好 MC-LR 和 MC-RR 降解效果,通过降解基因 mlrA 鉴定,推测菌株 SW1 降解 MC-LR 途径可能与 ACM-3962 相似;2014年王菲凤等^[7] 筛得一株越南伯克霍尔德菌 (*Burkholderia vietnamiensis*, C09V),48 h内 MC-LR 降解率为97.6%,通过一级反应动力学方程、Logisitic 生长方程拟合和 SEM、FTR 表征发现菌株 C09V 通过细胞表面及体内一系列的生化作用降解并利用 MC-LR,并推测该菌株降解 MC-LR 的酶催化途径可能异于 MrA 酶.动力学研究被广泛应用于微生物降解 MC-LR,并推测该菌株降解 MC-LR 的酶催化途径可能异无 MrA 酶.动力学研究被广泛应用于微生物降解 MC-LR,并推测该菌株降解 MC-LR 的酶催化途径可能异无 MrA 酶.动力学研究被广泛应用于微生物降

本研究以课题组从太湖百渎港芦苇荡底泥中分离出的菌株 CQ5 为研究对象,建立该菌株降解 MC-LR 的动力学模型,考察降解过程中 MC-LR 浓度、降解速率和菌株生长量三者之间的偶合关系,并初步 推测菌株 CQ5 降解 MC-LR 的可能机理,以期为优化 MC-LR 降解菌的工程应用提供理论参考.

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 样品

菌种来源:菌株 CQ5 为本课题组从蓝藻爆发时期(2016 年 7 月 31 日)于太湖百渎港采集的芦苇荡 根部底泥中筛得,分离纯化后于 4 ℃下斜面保存.菌落直径约为 1—4 mm,圆形、乳白、透明状、培养后期 菌落逐渐变大,表面干燥形成褶皱,边缘略不规则,呈米黄色.光学显微镜下观察菌体呈杆状,革兰氏阳 性.结合生理生化特征及 16S rDNA 序列分子鉴定结果,推测其为耐硼赖氨酸芽孢杆菌(Lysinibacillus boronitolerans),菌株 CQ5 已经送国家微生物保藏中心保藏(保藏号:CGMCC No.14051).

蓝藻样品:从太湖蓝藻站收集脱水后的藻泥,晾晒至干,干藻进球磨机 400 r·min⁻¹研磨 2 h 后过 60 目筛网,制成的藻粉避光低温保存.

1.2 主要试剂与仪器

MC-LR标准品(上海酶联生物科技有限公司);甲醇为HPLC色谱纯;其余试剂为分析纯.

微囊藻毒素(MC)酶联免疫试剂盒(上海酶联生物科技有限公司);Multiskan Mk3 酶标仪(美国 THERMO FISHER 科技公司);752N 紫外分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);PHS-3C pH 计(上 海精密科学仪器有限公司).

1.3 培养基

(1) 无机盐 & MC-LR 培养基

称取K2HPO41.6g,KH2PO40.4g,MgSO47H2O0.2g,NaCl0.5g,CaCl220mg,FeCl36H2O2.3mg,加

蒸馏水至1 L.添加本课题组提取的 MC-LR 粗提液作为碳、氮源,调节 pH 值至 7—7.2.

(2)营养肉汤培养基

营养肉汤培养基及培养基灭菌条件参照文献[9].

制备固体培养基时,向液体培养基中添加1.5%—2%琼脂,加热溶解,灭菌冷却后使用.

1.4 MC-LR 的提取与检测

本研究采用 MC-LR 粗提液调节降解试验培养基中 MC-LR 的含量,采用本课题组的专利^[10]方法从 藻粉中提取 MC-LR 粗提液.

采用上海酶联生物科技有限公司的微囊藻毒素(MC)酶联免疫试剂盒测定 MC-LR 的含量, MC-LR 检测限为 0.05—0.80 μ g·L⁻¹, 详细检测步骤参照试剂盒使用说明书.

1.5 MC-LR 降解菌 CQ5 的降解实验研究

由前期研究知,菌株 CQ5 的最适 pH 值为 7,降解实验最适接菌量为 3%.在上述条件下,将活化的 CQ5 菌液接种至 30 mL 无机盐 &MC-LR 培养基中,140 r·min⁻¹振荡培养,相同降解条件下设平行实验和 不接菌空白实验,每隔 2 h 取样测定菌株细胞密度,以 600 nm 波长下菌液的光密度值 OD₆₀₀表示;每隔 1 d取样 8000 r·min⁻¹离心 10 min,取上清液 4 ℃保存至测定 MC-LR 含量.

20世纪90年代以来,穆丽娜等^[11-12]多位学者对太湖、鄱阳湖、秦皇岛洋河水库和北京官厅水库的 调查显示,这些水体中 MCs 含量在 0.13—20 μg·L⁻¹范围内,同时鉴于夏季太湖浅水水温约在 28—35 ℃ 范围内^[13].则将降解实验中 MC-LR 初始浓度设为 14.12 μg·L⁻¹,培养温度设为 30 ℃.

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 菌株 CQ5 对 MC-LR 的降解特性

在初始 pH 值为 7, MC-LR 浓度为 14.12 μg·L⁻¹的条件下, 将活化后的 CQ5 菌液按 3%接菌量接入 30 mL 无机盐 &MC-LR 培养基中, 30 ℃、140 r·min⁻¹振荡培养 6 d, 所得 MC-LR 降解曲线如图 1 所示. 图 1可以看出, 在开始的 1 d 内菌株 CQ5 对 MC-LR 降解缓慢, MC-LR 浓度仅降低了 1.56 μg·L⁻¹, 分析可 能是由于菌株 CQ5 处于转接后对新培养基中外源异生物质的适应过程^[14], 首先利用转接菌液中少量的 蛋白胨培养基和粗提液中分子结构较为简单的营养物质, 而蛋白胨中存在寡肽结构, 其与 MCs 的分子 结构相似, 菌株 CQ5 在利用蛋白胨的同时偶然降解 MCs, 以保证菌株的正常生长^[15].第 2 天菌株 CQ5 对 MC-LR 的降解速率加快, 日降解速率达到 4.4 μg·(L·d)⁻¹.随着大量的 MC-LR 被降解, 营养基质尤其是 碳、氮源不足, 从第 4 天开始 MC-LR 的降解速率有所减缓. 至第 6 天时, 降解体系中 MC-LR 的残留浓度 为 1.57 μg·L⁻¹, 降解率达 88.86%, 而不加菌空白对照组中 MC-LR 浓度基本没有变化, 可知菌株 CQ5 对 MC-LR 具有较强的降解能力.



Fig.1 MC-LR biodegradation curve by strain CQ5

^{2.2} Logistic 模型及一级反应动力学分析 菌株 CQ5 的生长曲线及其对 MC-LR 的降解曲线如图 2 所示,随着培养时间的加长,培养基中 MC-LR

的降解与菌株生长同步进行;随着 MC-LR 浓度的逐渐降低,菌株首先呈对数生长,然后进入稳定状态, 最高菌株细胞密度达到1.344.由于采用 MC-LR 粗提液调节无机盐培养基中的 MC-LR 浓度,存在杂质可 作为微生物的营养物质,因此相对于赵俊斌等^[16-18]的藻毒素降解实验中微生物细胞密度,本研究中菌株 细胞密度较高.说明菌株 CQ5 在复杂培养环境中生长良好且能够有效降解 MC-LR,对降解自然水体中 MC-LR 具有一定实用价值.

Logistic 模型常被用作描述有限环境下生物种群 S-型增长,对研究种群数量动态变化具有重要意义.本文中菌株 CQ5 在无机盐 &MC-LR 培养基环境中生长,碳、氮源有限,因此采用 Logistic 模型描述菌株 CQ5 的生长过程.Logistic 方程如式(1)所示.

$$N_t = \frac{K}{1 + \mathrm{e}^{a - n}} \tag{1}$$

其中, N_t 为t时刻的菌株细胞密度,(OD₆₀₀);t为时间(h);K为菌株生长的环境承载量,(OD₆₀₀);r为菌 株生长平均速率(h⁻¹);a是与K和 N_0 相关的一个参数^[19].

基于菌株 CQ5 的初始细胞密度 N₀为 0.069,最大细胞密度 N₅₈(*t* = 58 h)为 1.344,通过 Origin 8.5.1 对菌株 CQ5 的细胞密度与培养时间的关系进行 Logistic 方程曲线拟合,如图 3 所示,并求解方程中的参数.由图 3 可知,菌株 CQ5 的生长情况可由式(2)表示,其中 K 为 1.306, r 为 0.1685, a 为 1.688, 决定系数 R²为 0.982.



由图 2 可知,随着培养基中的 MC-LR 浓度的降低,菌株 CQ5 对 MC-LR 的降解速率亦呈降低趋势,因此采用一级反应方程分析菌株 CQ5 降解 MC-LR 反应中降解速率与底物浓度的关系,并研究该降解 过程中 MC-LR 浓度随时间变化的定量关系,一级反应方程式如式(3)所示.

$$\frac{\mathrm{d}S}{\mathrm{d}t} = -kS\tag{3}$$

对式(3)两边积分得:

$$\ln S = -kt + \ln S_0 \tag{4}$$

其中,*S*为降解至*t*时刻反应体系中 MC-LR 的浓度($\mu g \cdot L^{-1}$);*t*为降解时间(d);*k*为一级反应速率常数 ($\mu g \cdot (L \cdot d)^{-1}$);*S*₀为 MC-LR 的初始浓度($\mu g \cdot L^{-1}$).

基于 MC-LR 的初始浓度为 14.12 μ g·L⁻¹,对 ln*S*与*t*的关系进行线性拟合,结果如图 3 所示,菌株 CQ5 降解 MC-LR 的一级反应动力学可由式(5)及(6)表示,其中一级动力学反应速率常数 *k* 为 0.3698, 半衰期 $t_{1/2}$ 为 1.88 d,决定系数 R^2 为 0.994.根据式(6)进一步推导的 MC-LR 浓度与降解时间的关系表达 式如式(6)所示.

$$\frac{dS}{dt} = -0.3698S$$
(5)

$$nS = 2.648 - 0.3698t$$
(6)
$$S = e^{2.648 - 0.3698t}$$
(7)

根据生长曲线及 MC-LR 降解一级反应动力学拟合结果可知, Logistic S-型增长模型可较好地描述菌 株 CO5 的生长情况,可以看出,菌株 CO5 生长的延滞期较短,很快进入对数生长期,1 d 后菌株生长逐渐 减缓进入稳定期,4d后菌株生长呈小幅度的衰亡趋势,结合图2可以看出,MC-LR的降解主要是在菌 株生长的稳定期及衰亡期:在无机盐 & MC-LR 培养基中菌株 CO5 对 MC-LR 的降解符合一级反应动力 学方程式,其降解速率与 MC-LR 的浓度具有相关性;综合来看,随着 MC-LR 浓度的降低,菌株 CQ5 的生 长符合 Logistic 经典模型,这反映出菌株降解 MC-LR 并利用其作为碳、氮源促进自身生长的动态关系. 2.3 菌株 CQ5 的 Monod 动力学模型构建

本文以添加 MC-LR 粗提液作为碳、氮源的无机盐培养基进行降解实验, MC-LR 浓度是菌株 CQ5 生 长的一项控制因素,并且在菌株 CO5 降解 MC-LR 的动力学研究中发现 MC-LR 浓度亦是 MC-LR 降解速 率的影响因素,可以推测 MC-LR 浓度、菌株 CQ5 细胞密度和 MC-LR 降解速率三者之间存在偶合关系. 由上可知,菌株 CO5 降解 MC-LR 的主要阶段处于菌株生长的稳定期和衰亡期,因此采用低底物浓度下 的 Monod(莫诺)方程式对降解过程进行分析,探明菌株 CQ5 降解 MC-LR 并利用其作为碳、氮源以促进 自身生长的动态关系.

在低底物浓度条件下, Monod 方程式如下所示:

$$\nu = \frac{\nu_{\text{max}}}{K_{\text{s}}}S = K_2 S \tag{8}$$

其中, K_s 为饱和常数($\mu g \cdot L^{-1}$),(菌株 CQ5 比增殖速率 $\mu = \frac{1}{2}\mu_{max}$ 时 MC-LR 的浓度);v为 MC-LR 比降解 速率($\mu g \cdot (L \cdot d)^{-1}$); v_{max} 为 MC-LR 最大比降解速率($\mu g \cdot (L \cdot d)^{-1}$);S 为 MC-LR 的浓度($\mu g \cdot L^{-1}$); $K_2 =$ $\frac{\nu_{\text{max}}}{K_s}$. v表示单位生物量的有机底物降解速度,按其物理意义可由式(9)表示,其中 $\frac{dS}{dt}$ 根据其微分定义, 以 $\frac{\Delta S}{\Lambda}$ 作近似处理.

$$\nu = -\frac{\mathrm{d}S}{\mathrm{d}tN} = K_2 S \tag{9}$$

其中,N为菌株 CQ5 自然生长量,以细胞密度 OD₆₀₀表示.

基于降解实验数据对式(9)进行线性拟合,其结果如图4所示.可知决定系数 R²为 0.974,且其中 K, 为0.342,将K,带人式(9)转化可得到 MC-LR 浓度、菌株 CQ5 细胞密度和 MC-LR 降解速率三者之间的 偶合关系式,如式(10)所示.

$$-\frac{\mathrm{d}S}{\mathrm{d}t} = 0.342NS\tag{10}$$

对式(10)两边积分移项得到菌株 CQ5 降解 MC-LR 并利用其作为碳、氮源以促进自身生长的一种 动态关系式,如式(11)所示:

$$S = 14.12e^{-0.342Nt}$$
(11)

综上所述, Monod 模型较好地模拟菌株 CQ5 降解 MC-LR 的反应过程, 降解过程中 MC-LR 降解速率 与浓度和菌株细胞密度二者均具有相关性,而 MC-LR 浓度受菌株细胞密度和降解时间的影响,因此菌 株 CQ5 降解 MC-LR 和菌株自身生长存在一种动态平衡,如式(11)所示.

1960—1970年代, Lawrence 证实 Monod 方程式完全适用于污水生物处理领域, 其中活性污泥净化 过程分为初期吸附去除和微生物代谢作用^[20].根据动力学分析结果,类比推测菌株 CQ5 主要是通过一 系列生化反应将粗提液中的 MC-LR 分解利用,作为碳、氮源供给自身生长,辅以细胞表面上覆盖的多糖 类的黏质层单一的吸附和凝聚作用,但要弄清菌株对 MC-LR 的降解途径及分子机制,有待进一步对降 解产物进行分析.





表 1 为本研究中描述菌株 CQ5 降解 MC-LR 过程的一级反应动力学方程式 $S = e^{2.648-0.3698t}$ 和 Monod 模型方程式 S = 14.12e^{-0.342Nt} (N=1.08)比较,可见这 2 个模型的预测结果高度一致(2 个模型间最大相 对误差为 0.19%),均可较好地模拟、预测菌株 CQ5 生长及其降解体系中的 MC-LR 浓度.

、

			表1 2 种模型预	〔测比较		
Table 1 Comparison of the prediction of two models						
时间 Time/d	MC-LR 实测浓度 (平行试验) - MC-LR measured concentration (parallel test) /(µg·L ⁻¹)	一级反应动力学模型 First-order reaction kinetics model		Monod 模型 Monod model		2个模型间
		预测浓度 Measured concentration/ (μg·L ⁻¹)	与实测值 相对误差 Relative error with measured value/%	预测液度 Measured concentration/ (µg・L ⁻¹)	与实测值 相对误差 Relative error with measured value/%	相对误差 Relative error between two models/%
0	14.120	14.120	C	14.120	_	—
1	12.563	9.759	-22.32	9.759	-22.32	0
2	8.183	6.742	-17.61	6.745	-17.57	0.04
3	4.484	4.658	3.88	4.662	3.98	0.09
4	2.917	3.218	10.31	3.222	10.46	0.12
5	2.140	2.223	3.91	2.227	4.09	0.18
6	1.573	1.536	-2.37	1.539	-2.15	0.19

注:N取 1.08, n = 6, P > 0.05. Note: N takes 1.08, n = 6, P > 0.05

3 结论(Conclusion)

(1) 当初始 pH 值为 7, 接菌量为 3%时, Lysinibacillus boronitolerans CQ5 在以 MC-LR 粗提液为碳、氮 源的无机盐培养基中呈经典 Logistic 的"S"形生长,6 d 内可使 MC-LR 浓度从 14.12 µg・L⁻¹降低至 1.57 μg·L⁻¹,降解率达 88.86%,其降解过程符合一级反应动力学方程式,降解速率与 MC-LR 浓度具有 相关性,反应速率常数k为 0.3698.

(2) 降解体系中 MC-LR 浓度、菌株 CQ5 细胞密度和 MC-LR 降解速率三者之间的偶合关系符合低 浓度下 Monod 模型, MC-LR 降解速率与浓度和菌株细胞密度二者均具有相关性, 其中 MC-LR 浓度随菌 株细胞密度和降解时间而变化,菌株 CO5 降解 MC-LR 和菌株自身生长 2 者间保持动态平衡.推测菌株 CQ5 降解 MC-LR 主要是通过一系列生化反应将粗提液中的 MC-LR 分解利用,作为碳、氮源供给自身生 长,辅以细胞表面上覆盖的多糖类黏质层的吸附和凝聚作用.

参考文献(References)

ZHAO S, CHEN W, JIA Y L, et al. Isolation and degradation characteristics of microcystin-degrading bacteria in treatment pool of cyanobacteria blooming [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2013, 37(3):522-529(in Chinese).

- [2] JONES G J, BOURNE D G, BLAKELEY R L, et al. Degradation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by aquatic bacteria [J]. Natural Toxins, 1994, 2(4):228-235.
- [3] BOURNE D G, JONES G J, BLAKELEY R L, et al. Enzymatic pathway for the bacterial degradation of the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin LR[J]. Applied & Environmental Microbiology, 1996, 62(11):4086-4094.
- [4] BOURNE D G, RIDDLES P, JONES G J, et al. Characterization of a gene cluster involved in bacterial degradation of the cyanobacterial toxin microcystin LR[J]. Environmental Toxicology, 2001, 16(6):523-534.
- [5] PARK H D, SASAKI Y, MARUYAMA T, et al. Degradation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by a new bacterium isolated from a hypertrophic lake[J]. Environmental Toxicology, 2001, 16(4):337-343.
- [6] 杨力力.环境因素对微囊藻毒素厌氧微生物降解的影响[D].武汉:武汉理工大学,2007.
 YANG L L. Effects of environmental factors on the degradation of microcystins by anaerobic microorganisms[D]. Wuhan: Wuhan University of Technology, 2007(in Chinese).
- [7] 王菲凤,吴衍,高滢,等.越南伯克霍尔德菌降解水中微囊藻毒素-LR[J].环境工程学报,2014,8(9):3837-3842. WANG F F, WU Y, GAO Y, et al. Biodegradation of microcystin-LR by *Burkholderia Vietnamiensis*[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2014, 8(9):3837-3842(in Chinese).
- [8] 闫海,王华生,刘晓璐,等.微囊藻毒素微生物降解途径与分子机制研究进展[J].环境科学,2014,35(3):1205-1214.
 YANG H, WANG H S, LIU X L, et al. Advances in the pathway and molecular mechanism for the biodegradation of microcystins[J].
 Environmental Science, 2014, 35(3):1205-1214(in Chinese).
- [9] 李秋艳.藻毒素降解菌、溶藻细菌的分离鉴定及其原生质体制备[D].常州:常州大学,2012.
 LIQY. Isolation, identification of microcystin degrading bacteria and algae-lysing bacteria and protoplast preparation of T1 strain[D].
 Changzhou: Changzhou University, 2012(in Chinese).
- [10] 张文艺,邱小兰,姚立荣,等.从太湖蓝藻中提取微囊藻毒素-LR的方法[P].中国,发明专利,201110003498.3,2011-08-17.
 ZHANG W Y, QIU X L, YAO L R, et al. Method of extracting microcystin-LR from cyanobacteria in Taihu Lake[P]. China, Invention patent, 201110003498.3, 2011-08-17(in Chinese).
- [11] 穆丽娜,陈传炜,俞顺章,等.太湖水体微囊藻毒素含量调查及其处理方法研究[J].中国公共卫生,2000,16(9):803-804.
 MULN, CHENCW, YUSZ, et al. Study on investigation of microcystin content in Taihu Lake and its treatment method[J]. China Public Health, 2000,16 (9):803-804(in Chinese).
- [12] 国晓春,卢少勇,谢平,等.微囊藻毒素的环境暴露、毒性和毒性作用机制研究进展[J].生态毒理学报,2016,11(3):61-71.
 GUO X C, LU S Y, XIE P, et al. Environmental exposure, toxicity and toxic mechanisms of microcystins: A review[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016,11 (3):61-71(in Chinese).
- [13] 欧阳潇然,赵巧华,魏瀛珠.基于 FVCOM 的太湖梅粱湾夏季水温、溶解氧模拟及其影响机制初探[J].湖泊科学,2012,25(4): 478-488.

OUYANG X R, ZHAO Q H, WEI Y Z. A preliminary exploration of temperature and dissolved oxygen based on FVCOM in Meiliang Bay, Lake Taihu and its influence mechanism [J]. Lake Science, 2012,25 (4):478-488(in Chinese).

- [14] BLACK J G. Microbiology: Principles and explorations, 8th edition [M]. America: Wiley, 2012.
- [15] 杨静东,尹玉芬,胡梁斌,等,微生物菌群JSM004 对微囊藻毒素的生物降解[J].农业环境科学学报,2009,28(8):1669-1675. YANG J D, YIN Y F, HU L B, et al. Biodegradation of microcystins by indigenous mixed bacterial population JSM004[J]. Journal of Agro-Environmental Science, 2009,28 (8):1669-1675(in Chinese).
- [16] 赵俊斌,刘凯英,薛罡,等.微囊藻毒素-LR 降解菌的筛选及降解特性研究[J].环境工程学报,2012,6(2):671-676.
 ZHAO J B, LIU K Y, XUE G, et al. Research of screening degradation characteristics of bacterium for the degradation of microcytins-LR
 [J]. Journal of Environmental Engineering, 2012,6 (2):671-676(in Chinese).
- [17] 谢维,吴涓,李玉成,等.一株微囊藻毒素降解菌的筛选及鉴定[J].生物学杂志,2012,29(6):35-38.
 XIE W, WU J, LI Y C, et al. Screening and identification of a microcystins degrading bacterial strain[J]. Journal of Biology, 2012,29 (6):35-38(in Chinese).
- [18] 游狄杰,陈晓国,向荟圯,等.微囊藻毒素降解菌 Paucibacter sp. CH 菌的分离鉴定及其降解特性[J].环境科学,2014,35(1): 313-318.

YOU D J, CHEN X G, XIANG H Y, et al. Isolation, identification and characterization of a microcystin degrading bacterium *Paucibacter* sp. strain CH [J]. Environmental Science, 2014,35 (1):313-318(in Chinese).

- [19] 杨益民,付必谦.关于 Logistic 增长模型参数估计方法的再探讨[J].统计与决策,2015(13):28-32.
 YANG Y M, FU B Q. A further discussion on the parameter estimation method of Logistic growth model[J]. Statistics and Decision Making, 2015(13):28-32(in Chinese).
- [20] 张自杰.排水工程.下册[M].北京:中国建筑工业出版社,2015:97-107.
 ZHANG Z J. Drainage works [M]. Beijing: China Construction Industry Press, 2015:97-107(in Chinese).