J. Lake Sci.(湖泊科学), 2008, **20**(4): 437-442
http://www.jlakes.org. E-mail: jlakes@niglas.ac.cn
©2008 by *Journal of Lake Sciences*

我国水华蓝藻的新类群——阿氏浮丝藻(*Planktothrix agardhii*)生理特性*

林　桑[1,2], 彭　欣[1], 吴忠兴[1], 李仁辉[1**]
(1: 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)
(2: 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘　要: 阿氏浮丝藻(*Planktothrix agardhii*)是水华蓝藻的重要类群, 实验对我国不同省份分离到的 5 株阿氏浮丝藻生长速率、色素组成、光合活性参数进行了测定. 结果表明分离于广州的 HAB1128 叶绿素 a(Chl.a)含量较低, 藻蓝蛋白(C-PC)比例和含量较高. 电子传递速率(*ETR*)测定结果表明, HAB1128 的 *ETR* 曲线较高, 最大 ETR_{max} 值也显著高于其余 4 株, 高效的光能电子传递链弥补了光合色素 Chl.a 的不足, 以致 HAB1128 保持了中性的生长速率. 分离于武汉东湖的 HAB631 则与之正好相反, 较高的 Chl.a 受限于光能电子传递链的薄弱, 生长速率表现较低. 分离于北京、上海、昆明的 3 株藻株在各项生理指标上无显著差异.
关键词: 水华种; 阿氏浮丝藻; 颤藻; 生理特性; 色素; 光合活性

Physiological characteristics of *Planktothrix agardhii*—A new taxa of bloom cyanophyta in China

LIN Shen[1,2], PENG Xin[1], WU Zhongxing[1] & LI Renhui[1]
(1: *Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan* 430072, *P.R.China*)
(2: *Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100049, *P.R.China*)

Abstract: Five strains of *Planktothrix agardhii* isolated from five regions around China were studied for their physiological characteristics, including growth rate, pigment composition, photosynthetic activity. Strain HAB1128 isolated from Guangzhou contained lower chlorophyll-a(Chl.a), but higher C-PC content and higher C-PC ratio in total phycobiliprotein compared to other 4 strains. Results from electron transfer rate (*ETR*) showed that HAB1128 had higher photosynthetic *ETR* and the maximal ETR_{max}, which inferred that high-performance electron transfer chain retrieved the inadequacy of Chl.a of this strain, and lead to the neutral growth rate. On the contrary, HAB631 the strain isolated from East Lake (Wuhan), contained higher Chl.a content, but showed lower growth rate due to its weak electron transfer chain. No significant differences of physiological parameters were shown among three strains isolated from Beijing, Shanghai and Yunnan.
Keywords: Bloom species; *Planktothrix agardhii*; *Oscillatoriales*; physiological characteristics; pigment; photosynthetic activity

随着水体富营养化程度的加剧, 有害蓝藻水华频繁爆发. 继云南滇池、安徽巢湖、无锡太湖之后, 长春新立城水库、武汉东湖也相继爆发严重的蓝藻水华. 蓝藻水华涉及蓝藻门 40 个属, 其中常见的种类如微囊藻 (*Microcystis*), 鱼腥藻 (*Anabaena*), 束丝藻 (*Aphanizomenon*), 节球藻 (*Nodularia*), 浮丝藻 (*Planktothrix*)等, 然而, 我国除了对微囊藻进行大量研究外, 对其他水华蓝藻的研究稀缺. 就浮丝藻 (*Planktothrix*)而言, 仅胡鸿钧等[1]报道阿氏浮丝藻等 3 个种在我国的出现, 但是对浮丝藻形成蓝藻水华以及其特性并没有过多阐述. 浮丝藻属于无异形胞的丝状蓝藻, 1988 年 Anagnostidis & Komárek[2]基于其

* 中国科学院领域前沿项目(055102-1-501)和淡水生态与生物技术国家重点实验室开放课题(2007FB06)联合资助. 2007−11−02 收稿; 2008−01−29 收修改稿. 林桑, 男, 1983 年生, 硕士研究生; E-mail: biolin@ihb.ac.cn.
** 通讯作者; E-mail: reli@ihb.ac.cn.

全浮游性习性(Planktonic)以及其大部分种类具有均匀分布的伪空泡(gas vesicle)将其从颤藻属分离出来, 以阿氏浮丝藻(*P.agardhii*) 作为模式种. 2002 年 Suda 等基于分子系统关系对其分类特征做了描述和再修订, 进一步将不含伪空泡的种类排除在浮丝藻属之外[3]. Sivonen、Pomati 等研究表明浮丝藻能够产生包括微囊藻毒素(Microcystins), 海兔毒素(Aplysiatoxin), 神经毒性的鱼腥藻毒素-a(Anatoxin-a)以及贝类麻痹性毒素(PSP)在内的多种毒素[4-5]. 近年来, 在我国爆发的蓝藻水华中, 已发现浮丝藻混合在微囊藻水华, 也有些浮丝藻占优势的蓝藻水华, 但是除此之外, 浮丝藻的生长, 生理和生态等特性均不知晓. 为了在整体上对我国蓝藻水华的深入了解, 本文通过对我国五省区分离纯化到的阿氏浮丝藻藻株生理指标进行研究, 旨在了解该水华种在我国不同地理、气候环境下的生理特征差异及种间联系, 为进一步的浮丝藻研究打下理论基础, 也为有害蓝藻水华治理提供参考.

1 材料与方法

1.1 藻种

实验的5株阿氏浮丝藻分别采集于北京、上海、武汉、云南、广东, 经毛细管分离纯化后获得的单种藻种, 保存于本实验室有害藻类藻种库(HAB), 藻种的编号, 样品的采集信息以及基本形态特征见表1. 将藻液接入250ml三角瓶(内装150ml CT培养基[6])中静置培养, 接种当日藻液OD_{680}为0.032±0.003, 每日早晚均匀摇动使不贴壁生长, 光照强度为25μE/(m^2·s), 光暗周期为12:12h, 温度为25±1℃.

表1 5株阿氏浮丝藻藻种参数

Tab.1 Strains investigated in this study

藻种	采集地	采集日期	藻细胞宽 (μm)	藻细胞长 (μm)
HAB631	云南昆明滇池西湾	2007−01−08	3.81±0.19	2.61±0.29
HAB619	上海滴水湖	2006−11−12	3.66±0.16	3.49±0.16
HAB1128	广东中山	2006−06−13	4.38±0.29	2.53±0.24
HAB622	北京玉渊潭	2006−11−12	4.08±0.31	2.52±0.18
HAB638	湖北武汉东湖	2007−02−02	3.56±0.23	2.72±0.19

1.2 生长速率测定

接种后, 隔天定时取样 5ml, 分光光度计测定藻液的 OD_{680} 以及叶绿素 a 含量的变化, 实验持续 20d. 根据下式计算生长速率[7]: $K=(\lg t_2-\lg t_1)/t$. 其中 K 为生长速度常数, t 为培养天数, t_2 为培养 2d 时的细胞数, t_1 为培养 1d 时的细胞数.

1.3 叶绿素 a 相对含量测定

取 5ml 藻液于离心管中, 以 10000r/min 的转速离心 5min, 弃去上清液, 加入 5ml 80%丙酮, 振荡摇匀, 置 4℃、黑暗浸提 24h, 离心后上清液用 721 分光光度计测波长 646nm 和 663nm 下的吸光值, 根据下式[8]计算叶绿素 a 含量:

$$Chl.a(\mu g/ml)=12.72OD_{663}-2.7OD_{646}$$

计算得到的叶绿素 a 含量与当天测得的 OD_{680} 的比值即叶绿素 a 相对含量.

1.4 藻胆蛋白提取与测定

提取方法参考 Padgett 方法[9], 取 3ml 光照培养 8d, 处于指数生长期的藻样, 12000r/min 高速离心 5min, 弃上清, 加入 3ml PBS(0.05M, pH6.8). 将样品放入液氮 8h 后, 室温避光溶解, 反复冻融 3–4 次后提取藻胆蛋白. 将冻融样品解冻后 12000r/min 高速离心 5min, 上清分别测定 620nm, 650nm, 565nm 下光吸收值, 藻胆蛋白各组分含量根据下列公式[10]计算.

$$藻蓝蛋白\ PC(mg/ml)=(OD_{620}-0.7OD_{650})/7.38$$

$$别藻蓝蛋白\ AP(mg/ml)=(OD_{650}-0.19OD_{620})/5.65$$

1.5 光反应曲线(Light Response Curve)和电子传递速率

以浮游植物荧光分析仪(PHYTO-PAM, Waltz公司, 德国)检测阿氏浮丝藻光合系统Ⅱ(PSⅡ)饱和脉冲光强下叶绿素荧光值的变化, 计算PSⅡ的有效量子产率(Effective Quantum Yields, Y)和电子传递速率(*ETR*, 单位: μmol electrons /(m^2·s))[11].

$$Y=\triangle F/F_{m'}=(F_t-F_{m'})/F_{m'}$$

$$ETR=0.5Y\times PAR\times AF$$

式中, $F_{m'}$为饱和脉冲光下的最大荧光; F_t为作用光下实时荧光; *PAR*为光合活性辐射; *AF*为叶绿素对光照的吸收效率, 值为0.84.

1.6 数据分析

所有实验重复3次, 数据分析采用SPSS 13.0(SPSS Inc.)统计方式One-way ANOVA, LSD方法进行两两比较, $P<0.05$差异显著, $P<0.01$差异极显著.

2 结果

2.1 形态特征

分离到的5株阿氏浮丝藻其形态特征如图1所示: 细胞丝状排列, 藻丝不成簇, 藻体淡蓝绿色或黄绿色, 收缢多不明显, 胞内分布伪空泡结构, 具浮游习性. 不同地区浮丝藻的细胞宽及宽长比见表1. 其细胞宽度3.5–4.5μm, 宽长比1.0–1.73.

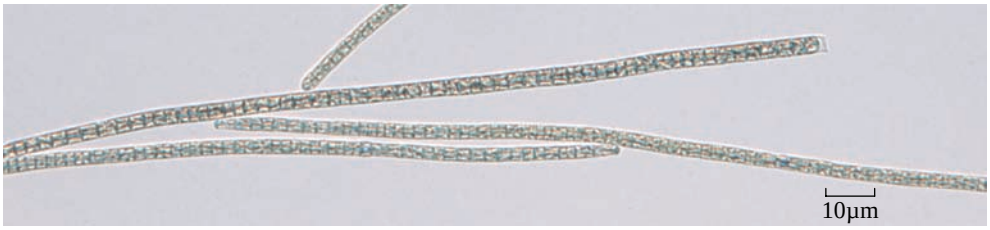

图1 HAB631阿氏浮丝藻

Fig.1 The *P. agardhii.* stains HAB631

2.2 生长速率

阿氏浮丝藻在转接后的4–14d为指数生长期, 14d后生长趋于平缓甚至黄化, 进入延滞期. 5株阿氏浮丝藻具有不同的生长速率μ(图2), 分离于武汉东湖的HAB638藻株生长速率最慢, μ为0.060d^{-1}. 而昆明滇

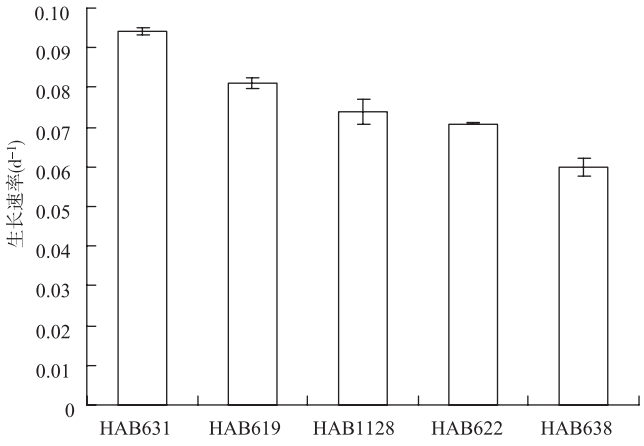

图2 5株阿氏浮丝藻生长速率比较

Fig.2 Comparison on the growth rates of 5 strains of *P. agardhii*

池的HAB631藻株显著高于其他地区藻株的生长速率(P<0.01), μ值为0.09421d^{-1}, 是HAB638的1.57倍.

2.3 色素组成

比较了5株阿氏浮丝藻指数生长期内3个取样时间点的叶绿素a相对含量(图3), 结果表明HAB638的叶绿素a含量较其它四藻株显著高(统计值). HAB1128的叶绿素a含量则较低. 14d时, HAB638叶绿素a量甚至是HAB1128的4.19倍.

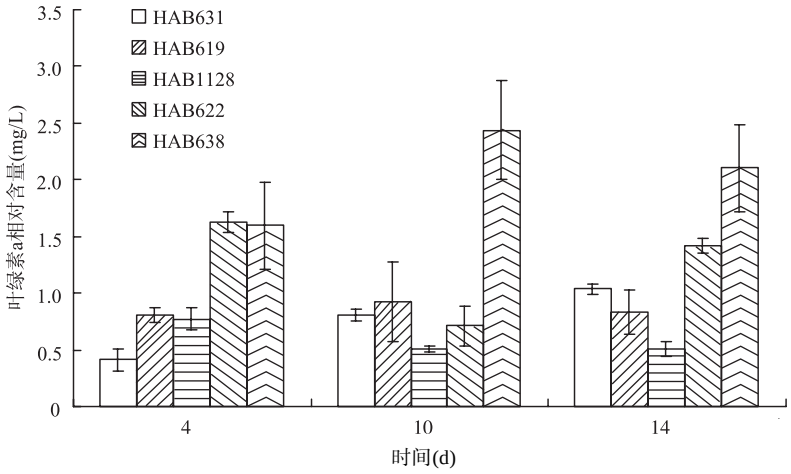

图3 阿氏浮丝藻叶绿素a相对含量比较

Fig.3 Comparison on the relative chlorophyll-a concentration of 5 strains of *P.agardhii*

5株阿氏浮丝藻的藻蓝素比较结果如图4a, HAB638的C-PC/Chl.a含量显著低于其它四株(P<0.01), 而HAB1128的C-PC/Chl.a含量显著高于其它四株(P<0.01), HAB1128是HAB638的7.1倍. 对藻胆蛋白组成的分析(图4b), 可知HAB1128的C-PC在藻胆蛋白中所占比例64.5%, 高于余下四株53.9%–58.6%.

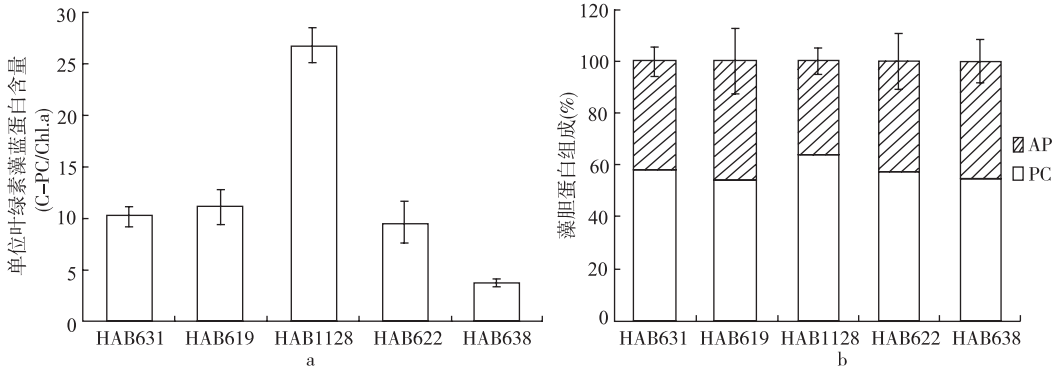

图4 5株阿氏浮丝藻藻蓝蛋白含量比较(a: 单位叶绿素藻蓝蛋白含量; b: PC、AP相对含量)

Fig.4 Comparison on C-PC contents of 5 strains of *P.agardhii*

(a: C-PC contents per Chl.a unit; b: Comparison on the PC and AP contents)

2.4 光合参数

对5株阿氏浮丝藻不同光强下的电子传递速率进行测定, 得到的光反应曲线(图5)表明, 5藻株的起始斜率a基本一致, 在光强达到440μmol photons/(m^2·s)时曲线斜率开始降低, 除HAB1128在925μmol photons/(m^2·s)光强时, 达到最大电子传递速率, 其余4株在685μmol photons/(m^2·s)光强, 达到ETR_{max}. 随

着光强的进一步增大直至2105μmol photons(m^2·s), *ETR*值逐渐降低. 来自北京(HAB 622)、上海(HAB619)和云南(HAB631)的3株阿氏浮丝藻光反应曲线几乎一致, 而来自广东的HAB1128, ETR曲线显著高于其他四株(统计值), 来自武汉的HAB638的ETR曲线最低. 不同藻株的ETR_{max}同样存在差异. HAB1128藻株ETR_{max}最高为109.9μmol photons/(m^2·s), HAB638最低为66.0μmol photons/(m^2·s), HAB1128的ETR_{max}为HAB638的1.67倍.

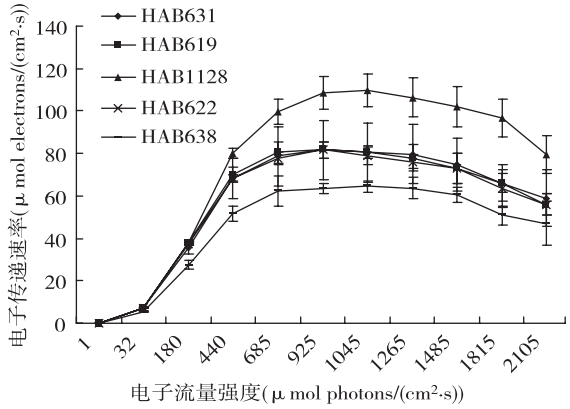

图5 5株阿氏浮丝藻电子传递速率曲线比较

Fig.5 Comparison on ETR curve of 5 strains of *P.agardhii*

3 讨论与结论

对我国不同水体水华蓝藻进行分析, 结果发现阿氏浮丝藻已经广泛存在于我国不同地域的水体中, 甚至成为某些水体的优势种类. 对比水华微囊藻指数期生长速率0.10–0.20d^{-1}[12], 阿氏浮丝藻生长速率较慢为0.07–0.10d^{-1}, 故微囊藻优势种水华实际爆发几率高于浮丝藻优势种水华, 在微囊藻生长受抑水体, 浮丝藻优势种水华爆发几率增大. 在形态及形态学参数方面, 这些藻类并没有表现出显著差异(表1). 然而, 不同地区的藻株在生长、光合色素、光合效率方面却表现出显著的不同(图1–5).

研究表明: 广东中山的阿氏浮丝藻HAB1128藻株, 叶绿素a含量远低于平均水平, 但却表现出了较高的生长速率. 武汉东湖的阿氏浮丝藻HAB638藻株, 叶绿素含量较高, 然而却表现出较低的生长速率. Gantt等研究表明蓝藻不含绿藻及高等植物中具有的叶绿素b, 而是以藻蓝蛋白作为天线色素将吸收的光线能量传递给PSⅡ. 藻蓝蛋白含量的增加, 有助于提高藻细胞光合作用效率[13]. 对HAB1128藻胆蛋白组成和光合活性的进一步研究发现, 其藻蓝蛋白在整个藻蓝蛋白组分中的比例和含量都显著高于其它4株藻株(图3). 这种高比例、高含量的藻蓝蛋白使得HAB1128的光能电子传递链更加高效, 提高了光合作用效率, 进而增强了对光的吸收利用, 从而提高其生长速率.

叶绿素荧光是光合作用的良好指标和探针, 通过对叶绿素荧光的分析, 可以定量的考评藻类的光合活性. 量子产量(*Y*)和PAR计算出的PSⅡ的*ETR*在光饱和区达到最大值. *ETR*是PSⅡ有效的光化学产率的产物[14], 其值反映了光合活性的大小[15-16], 并在一定程度上决定了植物的生长速率[17-18]. 本研究发现HAB1128平均电子传递速率*ETR*和最大电子传递速率都显著高于其它4株藻株, 表明其光合系统特别是PSⅡ系统的高活性. 进而可知, 尽管HAB1128含有相对较少的叶绿素a, 但其具备了高活性的光合系统和高效的电子传递链, 弥补了其叶绿素a含量上的缺陷, 故生长速率仍能保持较高水平. 来自北京、上海、昆明三地的阿氏浮丝藻在生长速率、色素组成、光合能力参数方面表现相近.

将对不同地域的阿氏浮丝藻的分子进化系统进行进一步研究, 有望从分子水平, 揭示阿氏浮丝藻进化进程及地域联系, 为我国水生态环境状况, 水环境保护, 饮水安全和卫生健康提供新的信息.

致谢: 中国科学院武汉病毒研究所孙修炼研究员在数理统计方面给予的指导, 实验室的余博识、杨丽同学、虞功亮助理研究员, 武汉大学江舒同学在实验过程中给予了宝贵的建议及支持, 在此一并表示感谢.

4 参考文献

[1] 胡鸿钧, 魏印心. 中国淡水藻类——系统, 分类及生态. 北京: 科学出版社, 2005: 127-128.

[2] Komárek J, Anagnostidis K. Cyanoprokaryota-2.Teil: *Oscillatoriales*. Heifelberg: Elsevier GmbH, 2005: 354-363.

[3] Suda S, Watanabe MM, Otsuka S *et al*. Taxonomic revision of water-bloom-forming species of *oscillatorioid* cyanobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2002, **52**: 1577-1595.

[4] Sivonen K, Jones G. Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. London: E & FN Spon, 1999: 41-111.

[5] Pomati F, Sacchi S, Rossetti C *et al*. The freshwater cyanobacterium *Planktothrix* sp. FPl: molecular identification and detection of paralytic shellfish poisoning toxins. *Journal of Phycology*, 2000, **36**: 553-562.

[6] Watanabe MM, Hirokim. NIES-collection: list of strains, Microalgae and Protozoa,5th ed. Microbial Culture Collection, National Institute for Enviromental Studies, Tsukuba, 1997.

[7] Guillard R. Division rates. In: Stein J ed. Handbook of phycological methords. Cambridge, 1973.

[8] Richards FA, Thompson TG. The estimation and characterization of plankton populations by pigment analyses. Ⅱ. A spectrophotometric method for the estimation of plankton pigments. *Journal of Marine Research*, 1952, **11**: 156-172.

[9] Padgett MP, Krogmann DW. Large scale preparation of pure phycobiliproteins. *Photosynthesis Research*, 1987, **11**: 225-235.

[10] Abelson JN, Simon MI. Phycobiliproteins in cyanobacteria. In: Lester P, Alexander NG eds. Method in Enzymology. Academic Press Inc, 1988: 167.

[11] Maxwell K, Johnson GN. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 2000, **345**: 659-668.

[12] Shen H, Song LR. Comparative studies on physiological responses to phosphorus in two phenotypes of bloom-forming *Microcystis*. *Hydrobiologia*, 2007, **592**: 475-486.

[13] Gantt E. Phycobilisomes. *Annu Rev of Plant Physiol*, 1981, **32**: 327-347.

[14] Masojidek J. Physilogical and molecular responses of algae to extreme conditions. *Nova Hedwigia*, 2001, **123**: 499-500.

[15] Bolhar HR, Nordenkamp SP, Long NR *et al*. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: A review of current instrumentation. *Functional Ecology*, 1989, **3**: 497-514.

[16] Demmig B, Winter K, Kruger A *et al*. Zeaxanthin and the heat dissipation of excess light energy in nerium oleander exposed to a combination of high light and water stress. *Plant Physiology*, 1988, **87**: 17-24.

[17] Peter JR, Rolf G. Rapid light curves: A powerful tool to assess photosynthetic activity. *Aquatic Botany*, 2005, **82**: 222-237.

[18] D'Ambrosio N, Arena C, De Santo AV. Temperature response of photosynthesis, excitation energy dissipation and alternative electron sinks to carbon assimilation in Beta vulgaris L. *Environmental and Experimental Botany*, 2006, **55**: 248-257.