

光照强度对铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 和斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 生长及吸收特性的影响*

殷燕^{1,2}, 张运林^{1**}, 王明珠^{1,2}, 刘笑蔷^{1,2}, 时志强¹

(1: 中国科学院南京地理与湖泊研究所, 湖泊与环境国家重点实验室, 太湖湖泊生态系统研究站, 南京 210008)

(2: 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 在不同的光照强度下, 测定了铜绿微囊藻、斜生栅藻在不同生长期的藻细胞密度、粒径、叶绿素 a 浓度、浮游植物吸收系数以及比吸收系数。单因素方差分析表明, 在整个培养周期中, 光照强度对铜绿微囊藻及斜生栅藻的藻细胞密度、叶绿素 a 浓度以及 440、675 nm 处吸收系数均有着显著的影响。两种藻在光照强度为 50 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 条件下, 藻细胞密度、叶绿素 a 浓度及吸收系数值相对最大。相关性分析表明: 藻类特征波段 440、675 nm 吸收系数与叶绿素 a 浓度、藻细胞密度在不同光照条件下都存在着显著的正相关性, 其中叶绿素 a 浓度与藻类吸收系数存在着幂函数的关系, 而线性关系能更好的说明藻细胞密度与吸收系数之间的关系。在不同光照强度及培养时期, 藻类比吸收系数在一定的范围内波动, 随光强增加比吸收系数呈上升趋势。铜绿微囊藻 440、675 nm 处比吸收系数与叶绿素 a 浓度呈显著的负相关关系, 而斜生栅藻比吸收系数与叶绿素 a 浓度之间无显著相关, 体现了不同藻类由于色素组成及比例差异其色素包裹效应也各不相同。对不同光照强度下的铜绿微囊藻及斜生栅藻进行 400 ~ 700 nm 波段积分, 得到了两者在 5、50 及 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 不同光强下的平均比吸收系数分别为 0.0144、0.0134、0.0160、0.0086、0.0088、0.0105 $\text{m}^2/(\text{mg Chl.a})$, 铜绿微囊藻比吸收系数明显大于斜生栅藻。

关键词: 铜绿微囊藻; 斜生栅藻; 吸收系数; 比吸收系数; 光照强度

Effects of different irradiation intensity on the growth and absorption properties of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus obliquus*

YIN Yan^{1,2}, ZHANG Yunlin¹, WANG Mingzhu^{1,2}, LIU Xiaohan^{1,2} & SHI Zhiqiang¹

(1: Taihu Lake Laboratory Ecosystem Research Station, State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, P. R. China)

(2: Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, P. R. China)

Abstract: Cell number, cell size, chlorophyll-a (Chl.a) concentration, absorption and specific absorption coefficients of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus obliquus* were determined in the different culture times at three different irradiation intensities. One-way analysis of variance showed that irradiation intensity had great significant effects on cell number, Chl.a concentration and phytoplankton absorption coefficients at 440 nm $a_{\text{ph}}(440)$, 675 nm $a_{\text{ph}}(675)$ in the entire experimental period. The largest values of these parameters were recorded in the light condition with 50 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$. Phytoplankton needs optimal growth irradiation intensity because over-low or high light density could have negative effects on the growth rate of phytoplankton. Correlation analysis showed that there were significant positive correlations between $a_{\text{ph}}(440)$, $a_{\text{ph}}(675)$ and Chl.a concentration under three different irradiation intensities for *M. aeruginosa* and *S. obliquus*. Power correlation could be best used to describe the correlations between $a_{\text{ph}}(440)$, $a_{\text{ph}}(675)$ and Chl.a concentration, while the linear correlation could be used to explain the relationships between $a_{\text{ph}}(440)$, $a_{\text{ph}}(675)$ and cell number. Meanwhile the specific absorption coefficients of *M. aeruginosa* and *S. obliquus* fluctuated

* 中国科学院知识创新工程项目 (KZCX2-YW-QN312)、国家自然科学基金项目 (40971252, 40825004)、江苏省自然科学基金项目 (BK2009336) 和国家水体污染控制与治理科技重大专项项目 (2009ZX07101-013) 联合资助。2011-10-24 收稿; 2011-12-30 收修改稿。殷燕, 女, 1987 年生, 硕士研究生; E-mail: yinxu1225123@yahoo.com.cn.

** 通信作者; E-mail: ylzhang@niglas.ac.cn.

within small range in different irradiation intensities at different experimental periods, and increased with increasing irradiation intensity. A significant negative relationship was found between *M. aeruginosa* specific absorption coefficients at 440 nm, 675 nm and Chl.a concentration. However, the specific absorption coefficients of *S. obliquus* had no relationship with Chl.a concentration mainly due to the composition and proportion of pigments and package effects. The average specific absorption coefficient integrated over the range of PAR (400 – 700 nm) of *M. aeruginosa* and *S. obliquus* at three irradiation intensities of 5, 50, 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ are 0.0144, 0.0134, 0.0160 and 0.0086, 0.0088, 0.0105 $\text{m}^2/(\text{mg Chl.a})$, respectively. The specific absorption coefficients of *M. aeruginosa* were significantly higher than those of *S. obliquus* mainly due to the algae cell size of *M. aeruginosa*, $3.14 \pm 0.43 \mu\text{m}$, twice smaller than that of *S. obliquus*, $7.24 \pm 0.79 \mu\text{m}$.

Keywords: *Microcystis aeruginosa*; *Scenedesmus obliquus*; phytoplankton absorption coefficient; specific absorption coefficient; irradiation intensity

浮游植物作为水体主要初级生产者及光能利用者,其光吸收特性成为水体生物光学中最关键的问题之一,通常是用浮游植物吸收系数来表征^[1]. 浮游植物吸收光谱反应了色素的组成、种类及比例^[2],而浮游植物比吸收系数是浮游植物吸收系数与叶绿素 a 浓度的比值,其表征的是单位叶绿素 a 浓度对光的吸收能力. 一方面,比吸收系数是水体遥感模型、水体初级生产力估算模型的重要输入参数和不确定性来源^[3-5],另一方面通过比吸收系数这个参数水体遥感的发展将逐步由水体组分浓度的反演向色素组成、浮游植物粒径及种群组成识别方向深入^[6-8]. 由此国内外展开了一系列对浮游植物吸收系数及比吸收系数的研究^[9-14],例如周虹丽等^[9]对室内培养的不同藻类生长期的吸收光谱及比吸收系数进行了比较研究,对吸收光谱与叶绿素 a (Chl.a) 浓度之间的关系进行了分析. Eduardo 等^[10]和 Bricaud 等^[11]则认为藻类粒径结构大小及色素成分对比吸收系数有着显著的影响,比吸收系数是浮游植物生物量与色素吸收之间联系的纽带. 而 Matsuoka 等^[12]研究发现比吸收系数的某个特征波段与硝酸盐浓度呈显著的正相关,而与温度无显著相关. Sathyendranath 等^[13]早期对 8 种浮游植物比吸收系数进行测定,在 440 nm 处比吸收的变化范围为 0.019 ~ 0.047 $\text{m}^2/(\text{mg Chl.a})$,而 $a_{\text{ph}}^*(\lambda)$ 不同是包裹效应及色素组成不同导致的.

太湖水体浮游植物群落演替存在明显季节变化,在夏季以蓝藻为主,而在其它季节则以绿藻、硅藻和鞭毛藻为主^[15]. 蓝藻和其它藻类在细胞粒径大小、光合色素组成上都存在很大差异,这会影响到浮游植物比吸收系数,进而会影响浮游植物叶绿素 a 浓度的遥感反演. 此外,光是水体浮游植物进行光合作用的主要限制因子,浮游植物生长过程中随光强增加光合色素浓度会有所降低,相伴随的辅助光合色素也会降低^[16]. 变化光强下光合以及辅助光合色素的变化势必也会引起浮游植物比吸收系数变化^[16]. 因此本研究选择太湖优势藻种铜绿微囊藻及斜生栅藻为研究对象,通过室内培养,得到了不同光照强度下两种藻的生长趋势,并通过测得两种藻在不同光照强度下的吸收系数、比吸收系数,建立了叶绿素 a 浓度、藻密度与其之间的关系,最终分析并探讨了两种藻吸收系数、比吸收系数差异及其对不同光照强度的响应,为进一步研究太湖蓝藻水华暴发形成机理及利用遥感技术识别浮游植物种群奠定了一定的基础.

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验选用的铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 和斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 均来自于中国科学院水生生物研究所的藻种库,两者都为单细胞生物.

1.2 实验方法

铜绿微囊藻和斜生栅藻的藻种均保存于光照培养箱. 胡小贞等^[17]研究发现,铜绿微囊藻生长的最适光照强度为 30 ~ 35 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 四尾栅藻 (与斜生栅藻同属于绿藻门) 生长的最适光照强度为 60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$. 由此实验过程中设置低、中、高 3 个光照水平: 5、50、100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 温度设置为藻类培养的最佳温度 25℃, 光暗周期比为 12:12. 采用 BG11 培养液 (<http://algae.ihb.ac.cn/>) 进行培养, pH 为 7.1. 把在光照培养箱中驯化 1 周处于对数期的铜绿微囊藻以及斜生栅藻接种于已灭菌的培养液中, 培养液与藻液浓度比为 6:1, 以达到铜绿微囊藻的接种密度为 $60 \times 10^4 \text{ cells/ml}$ 左右, 斜生栅藻的接种密度为 $40 \times 10^4 \text{ cells/ml}$ 左右. 每个处理设置 3 个平行样.

实验持续时间为 17 d, 采样频率为每隔 1 d 测定一次, 共采样 9 次. 取样过程均在无菌操作台进行. 测定的指标为: 藻细胞个数、细胞粒径、Chl.a 浓度、浮游植物吸收及比吸收系数.

1.3 参数测定

1.3.1 藻密度及粒径的测定 自接种开始, 每天均在光周期开始 1 h 后取样, 每个锥形瓶用灭菌取液枪取 0.1 ml 藻液于 0.1 ml 藻类计数框上, 在 OLYMPUS U-TV0.63XC 显微镜下计算 10 个视野取平均值作为藻密度 (AD). 在实验结束后, 随机选取不同藻种的不同处理下的 30 张藻细胞图片, 利用专业的图像处理软件 Image-Pro Express 6.0 来测定藻细胞粒径 (D).

1.3.2 Chl.a 浓度的测定 用 Whatman GF/F 滤膜过滤水样, 冷冻 48 h 后, 利用 90% 的热乙醇于 85℃ 水浴锅中萃取, 在暗处静置 4~6 h 后在 UV2550 分光光度计上分别测定波长在 665 nm 和 750 nm 处的吸光度, 随后用 1 mol/L 的盐酸进行酸化, 再次测定波长在 665 nm 及 750 nm 处的吸光度, 根据两次测得的吸光度进行 Chl.a 浓度的计算^[18].

1.3.3 浮游植物吸收系数、比吸收系数的测定 浮游植物吸收系数采用定量滤膜技术 (Quantitative Filter Technique, QFT)^[19] 得到, 用 25 mm 的 Whatman GF/F 膜过滤 10 ml 左右的藻液, 用同样湿润程度的空白膜作参比, 在 UV-2550PC 型分光光度计下用 ISR-240A 型积分球在反射率模式下采用 T-R 方法测定滤膜上颗粒物在 350~800 nm 波长范围的吸光度. 之后用各波段的吸光度减去 750 nm 波长处的吸光度, 采用如下公式进行放大因子校正^[20]:

$$OD_s = 0.423OD_f + 0.479OD_f^2 \quad OD_s \leq 0.4 \quad (1)$$

式中, OD_s 为校正后的滤膜上悬浮颗粒物吸光度; OD_f 为在仪器上直接测得的滤膜上悬浮颗粒物的吸光度.

实验中滤膜上富集的是纯藻, 没有非藻类颗粒物, 因此滤膜上悬浮的颗粒物的光谱吸收系数即为浮游植物吸收系数, 由如下公式得到:

$$a_{ph}(\lambda) = 2.303(S/V)OD_s(\lambda) \quad (2)$$

式中, $a_{ph}(\lambda)$ 为波长在 λ 处的浮游植物吸收系数 (m^{-1}), S 为滤膜上颗粒物的有效面积 (m^2), V 则为过滤的藻液体积 (ml).

由此浮游植物比吸收系数可以表示为:

$$a_{ph}^*(\lambda) = a_{ph}(\lambda)/Chl.a \quad (3)$$

式中, $a_{ph}^*(\lambda)$ 、 $a_{ph}(\lambda)$ 为波长在 λ 处浮游植物吸收系数 (m^{-1}) 和比吸收系数 ($m^2/(mg \text{ Chl.a})$), Chl.a 为叶绿素 a 浓度 ($\mu g/L$).

1.4 分析与统计

单因素方差分析采用 SPSS 16.0 统计软件; 曲线拟合及数据图绘制均在 Origin 7.5 软件中完成.

2 结果与讨论

2.1 不同光照条件对铜绿微囊藻、斜生栅藻生长的影响

两种藻在光照强度为 $50 \mu mol/(m^2 \cdot s)$ 和 $100 \mu mol/(m^2 \cdot s)$ 条件下呈现出“S”型生长曲线; 而在弱光照强度 $5 \mu mol/(m^2 \cdot s)$ 下生长呈持续缓慢增长, 在整个培养周期内, 铜绿微囊藻最大藻细胞数目为 2.10×10^6 cells/ml, 斜生栅藻为 1.22×10^6 cells/ml (图 1). 在光照强度为 $50 \mu mol/(m^2 \cdot s)$ 和 $100 \mu mol/(m^2 \cdot s)$ 的条件下, 由单因素方差分析结果表明, 在第 5 d 之前铜绿微囊藻在这两种体系下藻细胞数目比较接近, 无显著差异 ($P > 0.05$). 在第 5 d 以后, 生长趋势开始分离, 在 $50 \mu mol/(m^2 \cdot s)$ 条件下, 铜绿微囊藻呈现出良好的继续增长的生长趋势, 最大生物量达到了 9.53×10^6 cells/ml; 而在 $100 \mu mol/(m^2 \cdot s)$ 条件下, 尤其在培养的第 9 d 以后, 则开始趋于生长的稳定期, 铜绿微囊藻的生长受到了一定程度的抑制, 整个培养期内最大生物量达到 6.22×10^6 cells/ml (图 1a). 在第 7 d 之前斜生栅藻在 $50 \mu mol/(m^2 \cdot s)$ 和 $100 \mu mol/(m^2 \cdot s)$ 光照条件下的各个培养时间段的藻细胞数目比较接近 (图 1b), 而在第 8 d 之后, 单因素方差分析表明, 两种体系下斜生栅藻细胞密度差异极显著 ($P < 0.001$), 但与铜绿微囊藻相比较, 斜生栅藻不受高光照强度的抑制, 反

而保持着良好的生长优势,而且有较长的指数生长期.

单因素方差分析结果表明,第1~5 d,光照强度对铜绿微囊藻 Chl.a 浓度差异均不显著($P > 0.05$),而从第6 d开始,Chl.a 浓度受光照强度的影响差异显著($P < 0.001$). 培养结束时,与初始 Chl.a 浓度相比,光照强度分别为 5、50、100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,Chl.a 浓度增加的倍数为 2.85、20.06、10.19. 对于斜生栅藻而言,自培养的第3 d开始,在这三种光照条件下 Chl.a 浓度差异明显($P < 0.001$),至培养结束,Chl.a 浓度比初始 Chl.a 浓度在光照强度分别为 5、50、100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时增加了 3.00、10.67、7.28 倍.

从培养的过程中藻液颜色也能看出,在高光照条件下,铜绿微囊藻在培养后期呈现黄绿色,中光照条件下呈现蓝绿色,而低光照条件下呈现淡蓝色;斜生栅藻则在高光照及中光照条件下都呈现出黄绿色,在弱光照条件下呈现出淡黄色. 从图1和图2可推断出,藻类的生长有着一个适宜的光照条件,光能不足或者光能过饱和对于藻类进行光合作用都会产生不利的影响,从而降低藻类的生物量^[21-23]. 陈书秀等^[23]认为,光能不足时能限制藻类进行光合碳同化,而由于关键性酶没有进行彻底活化最终导致光合作用降低. 实验中弱光照条件下的藻类细胞密度以及 Chl.a 浓度都很低.

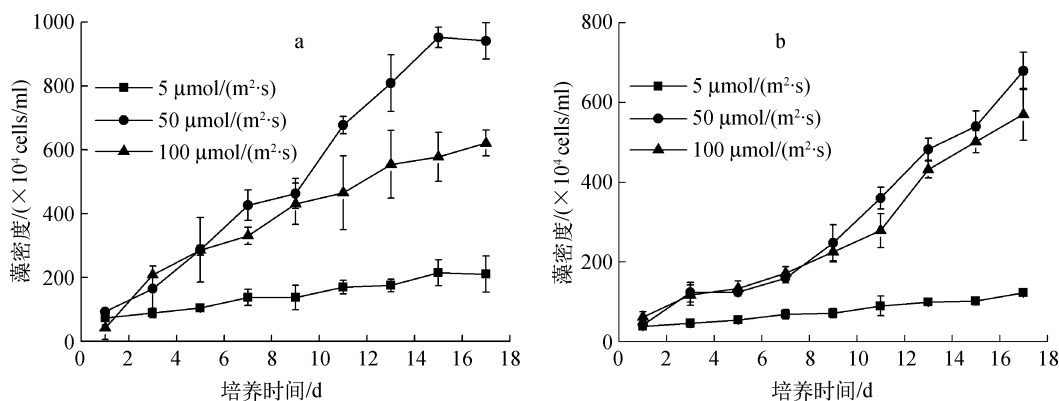


图1 不同光照强度下铜绿微囊藻(a)及斜生栅藻(b)的生长曲线

Fig. 1 Growth curves of *M. aeruginosa*(a) and *S. obliquus*(b) at different irradiation intensities

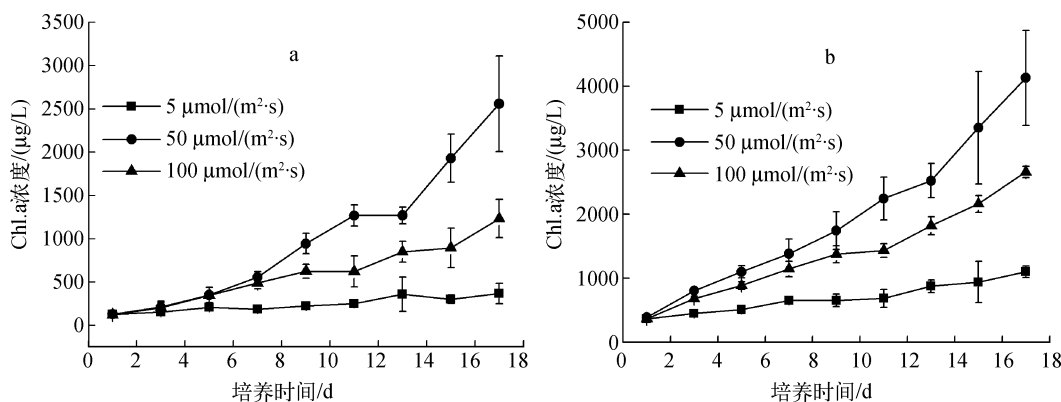


图2 不同光照强度下铜绿微囊藻(a)及斜生栅藻(b) Chl.a 浓度随时间变化

Fig. 2 Variations of Chl.a concentrations of *M. aeruginosa*(a) and *S. obliquus*(b) at different irradiation intensities

2.2 光照强度对两种藻的吸收系数的影响

光照强度对这两种藻类吸收光谱的变化趋势没有影响,吸收系数均随着藻类密度的增加而增加(图3). 由于 Chl.a、类胡萝卜素等的影响,铜绿微囊藻和斜生栅藻在 440 nm 和 675 nm 附近都有明显的吸收峰,而从

这两种藻的吸收光谱也能看出藻类不同的色素种类及组成能影响藻类的吸收光谱的形状. 由于铜绿微囊藻属蓝藻门, 受到藻蓝素的影响使得铜绿微囊藻的吸收光谱在 625 nm 附近有个次吸收峰, 在光照强度为 $50 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 条件下此吸收峰尤为明显(图 3b). 斜生栅藻在 485 nm 处有一次吸收峰, 相对于 440 nm 处的吸收峰, 显的比较平缓, 主要是由叶绿素 b 贡献的(图 3d、3e、3f). 由于蓝藻在 625 nm 存在一个吸收次峰, 许多研究基于蓝藻在 625 nm 处的特征吸收峰利用对应波段的遥感反射率发展了藻蓝素定量反演模型以及蓝藻水华的遥感定量识别^[24-25].

两种藻的吸收系数在不同的光照强度下有着显著的差异. 整个培养期, 光照强度分别为 5、50、 $100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时, 铜绿微囊藻 440 nm 吸收系数的变化范围分别为 $4.7 \sim 9.9$ 、 $5.0 \sim 55.2$ 、 $4.8 \sim 44.5 \text{ m}^{-1}$, 675 nm 吸收系数的变化范围分别为 $2.6 \sim 5.9$ 、 $2.7 \sim 33.4$ 、 $2.6 \sim 20.4 \text{ m}^{-1}$; 对应的 Chl.a 浓度变化范围为 $128.5 \sim 366.7$ 、 $127.5 \sim 2558.1$ 、 $120.9 \sim 1231.8 \mu\text{g}/\text{L}$. 在光照强度分别为 5、50、 $100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 下斜生栅藻 440、675 nm 吸收系数变化范围分别为 $6.3 \sim 18.0$ 、 $7.3 \sim 66.7$ 、 $7.7 \sim 58.9 \text{ m}^{-1}$, $4.4 \sim 13.5$ 、 $5.2 \sim 51.6$ 、 $5.2 \sim 41.1 \text{ m}^{-1}$, 对应的 Chl.a 平均浓度变化范围为 $366.5 \sim 1100.4$ 、 $387.5 \sim 4133.0$ 、 $365.6 \sim 2660.9 \mu\text{g}/\text{L}$. 由此可见, 尽管两种藻在不同光照强度下的波谱特征相似, 但其吸收系数值差异显著($P < 0.001$).

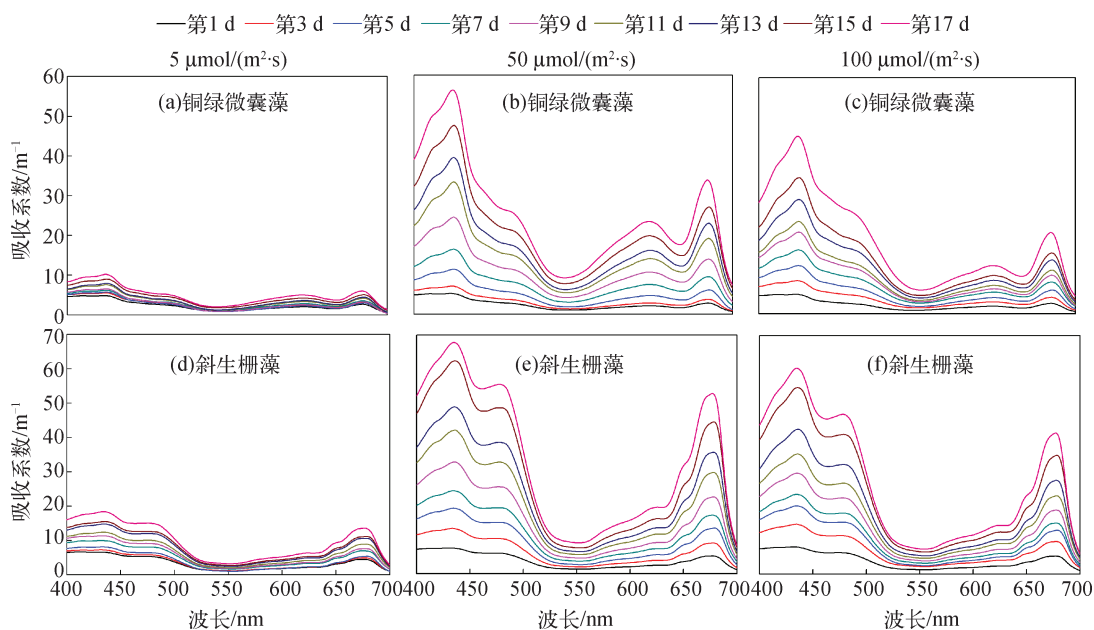


图3 不同光照强度下铜绿微囊藻及斜生栅藻在不同培养期的吸收光谱

Fig. 3 Absorption spectra of *M. aeruginosa* and *S. obliquus* in different culture times at different irradiation intensities

在遥感监测蓝藻水华、赤潮中常以 Chl.a 浓度作为指标, 对两种藻 440、675 nm 吸收系数与 Chl.a 浓度进行相关性分析发现, 两者在不同的光照强度下都存在着显著的正相关关系($P < 0.001$)(表 1), 而幂函数关系能最好地说明浮游植物吸收系数随着 Chl.a 浓度增加而增加. 铜绿微囊藻及斜生栅藻在光照强度为 50 和 $100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 条件下, 440、675 nm 吸收系数与 Chl.a 浓度的相关性比在弱光照条件下显著(表 1). 对于铜绿微囊藻而言, $R^2\{(\text{Chl.a}) - a_{\text{ph}}(440)\} > R^2\{(\text{Chl.a}) - a_{\text{ph}}(675)\}$, 由此说明 Chl.a 浓度对于铜绿微囊藻 440、675 nm 波段吸收系数贡献依次减小. 斜生栅藻在光照强度为 50 和 $100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 条件下, $R^2\{(\text{Chl.a}) - a_{\text{ph}}(440)\} < R^2\{(\text{Chl.a}) - a_{\text{ph}}(675)\}$. 对此次培养过程中的所有的铜绿微囊藻及斜生栅藻 440、675 nm 吸收系数与 Chl.a 浓度分别进行相关性分析, 并同样进行幂函数的拟合, 得到了两种藻吸收系数与 Chl.a 浓度之间的关系, 两种藻 440、675 nm 波段的吸收系数与 Chl.a 浓度的相关性低于光照强度为 50 和 $100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 条件, 而高于在 $5 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光照条件下培养的藻吸收系数与 Chl.a 浓度的相关性(图

4,表1).周虹丽等^[9]对室内培养的小球藻、扁藻、裸甲藻及混合藻吸收系数与Chl.a浓度进行分析,也发现两者之间存在显著的幂函数关系, R^2 最大达到0.986.

表1 不同光照强度下铜绿微囊藻与斜生栅藻440、675 nm吸收系数与藻细胞密度(AD)、Chl.a浓度的关系($P<0.001$)

Tab. 1 Relationship between *M. aeruginosa*, *S. obliquus* absorption coefficients and algae density, Chl.a at different irradiation intensities

藻种	光照强度	回归式	R^2	N
铜绿微囊藻	5 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$	$a_{\text{ph}}(440) = 3 \times 10^{-6} AD + 2.398$	0.856	27
		$a_{\text{ph}}(675) = 2 \times 10^{-6} AD + 0.979$	0.800	27
		$a_{\text{ph}}(440) = 0.273 \text{ Chl.a}^{0.590}$	0.812	27
		$a_{\text{ph}}(675) = 0.118 \text{ Chl.a}^{0.634}$	0.721	27
	50 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$	$a_{\text{ph}}(440) = 5 \times 10^{-6} AD - 2.478$	0.943	26
		$a_{\text{ph}}(675) = 3 \times 10^{-6} AD - 1.854$	0.928	26
		$a_{\text{ph}}(440) = 0.089 \text{ Chl.a}^{0.827}$	0.980	26
		$a_{\text{ph}}(675) = 0.039 \text{ Chl.a}^{0.862}$	0.979	26
	100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$	$a_{\text{ph}}(440) = 6 \times 10^{-6} AD - 2.090$	0.879	25
		$a_{\text{ph}}(675) = 3 \times 10^{-6} AD - 0.613$	0.880	25
		$a_{\text{ph}}(440) = 0.072 \text{ Chl.a}^{0.889}$	0.982	25
		$a_{\text{ph}}(675) = 0.025 \text{ Chl.a}^{0.933}$	0.982	25
斜生栅藻	5 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$	$a_{\text{ph}}(440) = 10^{-5} AD + 1.266$	0.904	27
		$a_{\text{ph}}(675) = 10^{-5} AD + 0.226$	0.905	27
		$a_{\text{ph}}(440) = 0.022 \text{ Chl.a}^{0.948}$	0.918	27
		$a_{\text{ph}}(675) = 0.01 \text{ Chl.a}^{1.023}$	0.901	27
	50 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$	$a_{\text{ph}}(440) = 9 \times 10^{-6} AD + 6.352$	0.923	27
		$a_{\text{ph}}(675) = 7 \times 10^{-6} AD + 3.423$	0.916	27
		$a_{\text{ph}}(440) = 0.020 \text{ Chl.a}^{0.980}$	0.974	27
		$a_{\text{ph}}(675) = 0.011 \text{ Chl.a}^{1.016}$	0.978	27
	100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$	$a_{\text{ph}}(440) = 9 \times 10^{-6} AD + 5.856$	0.950	27
		$a_{\text{ph}}(675) = 6 \times 10^{-6} AD + 3.473$	0.950	27
		$a_{\text{ph}}(440) = 0.015 \text{ Chl.a}^{1.047}$	0.974	27
		$a_{\text{ph}}(675) = 0.010 \text{ Chl.a}^{1.042}$	0.975	27

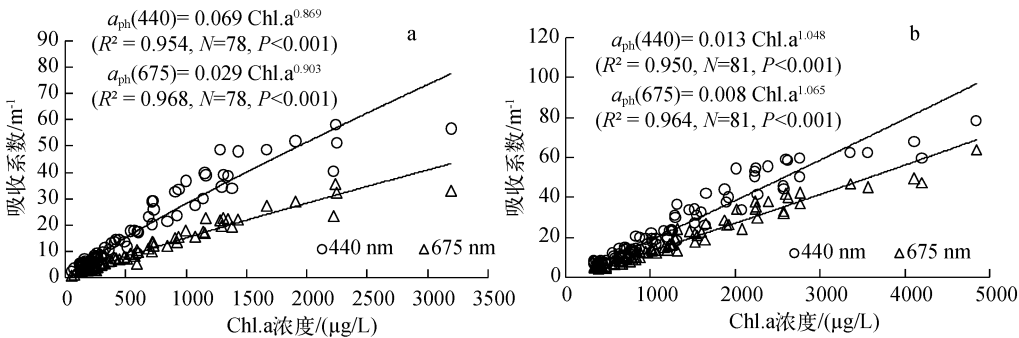


图4 铜绿微囊藻(a)及斜生栅藻(b)吸收系数与Chl.a浓度的关系

Fig. 4 Correlations between *M. aeruginosa*(a), *S. obliquus*(b) absorption coefficients and Chl.a concentration

藻细胞密度常作为衡量藻类生长状况的最主要的指标,但鲜有文献报道其与其它指标的联系.对藻细胞密度与藻类 440、675 nm 处吸收系数进行相关性分析,发现两者之间存在显著的正相关($P < 0.001$) (表 1).铜绿微囊藻在光照为 $50 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 条件下,440、675 nm 吸收系数与藻细胞密度相关性要好于弱光照及高光照条件下两者之间的相关性,决定系数 R^2 分别为 0.943、0.928.对于斜生栅藻而言,任一光照条件下的 440、675 nm 处吸收系数与藻细胞密度相关性都非常显著($R^2 > 0.9$, $P < 0.001$).三种光照强度体系下的铜绿微囊藻和斜生栅藻 440、675 nm 处的吸收系数与藻细胞密度的线性回归结果表明,决定系数 R^2 要比单个体系的 R^2 值大,以后在研究混合藻浮游植物吸收系数过程中就可以用图 5 中的模型来进行铜绿微囊藻及斜生栅藻 440、675 nm 吸收系数的估算,从而也为实验室混合藻种光谱分解作出贡献.

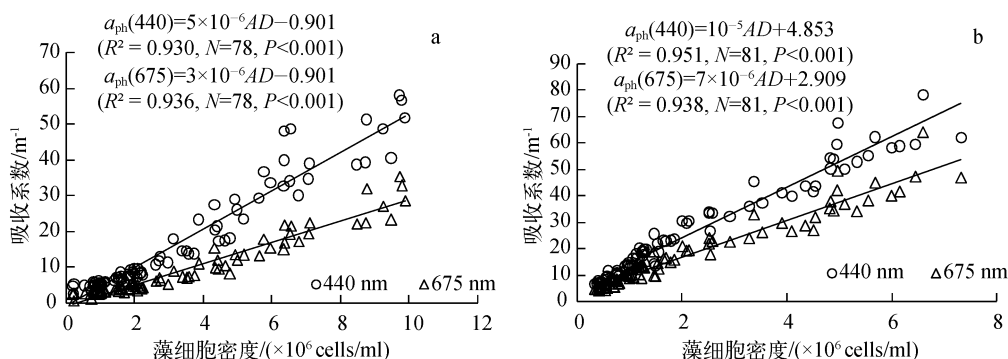


图 5 铜绿微囊藻(a)及斜生栅藻(b)吸收系数与藻细胞密度的关系

Fig. 5 Correlations between *M. aeruginosa* (a), *S. obliquus* (b) absorption coefficients and algae density

2.3 光照强度对两种藻比吸收系数的影响

两种藻的吸收系数在培养期内量值变化很大,而比吸收系数却是在一定小的范围内波动(图 6).研究发现在高光照条件下的铜绿微囊藻及斜生栅藻比吸收系数平均光谱量值最大(图 7),440 nm 处分别为 0.0364 ± 0.0028 、 $0.0222 \pm 0.0016 \text{ m}^2/(\text{mg Chl.a})$ (表 2),而光照强度在 5 和 $50 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 条件下两种藻比吸收系数平均光谱在量值较为接近(图 7),其特征波段 440、675 nm 比吸收系数数值与前人的报道范围相符合^[9,10,13]. Fujiki 等^[16]通过对 8 种藻在 6 种光强下比吸收系数的测定发现,比吸收系数随光强增加呈现对数增加.研究中由于只有 3 个光强梯度没法进行方程拟合,但比吸收系数随光强增加而增加的趋势基本上是一致的.对不同光照强度下的铜绿微囊藻及斜生栅藻进行 400~700 nm 波段积分,得到了两者在此范围内的平均比吸收系数分别为 0.0144 、 0.0134 、 $0.0160 \text{ m}^2/(\text{mg Chl.a})$, 0.0086 、 0.0088 、 $0.0105 \text{ m}^2/(\text{mg Chl.a})$.由此结合图 7 也可以看出,不管哪种光照强度,铜绿微囊藻 440、675 nm 处比吸收系数均大于斜生栅藻,两者有着显著的差异($P < 0.01$),这主要是由两种藻类细胞粒径不同导致.如铜绿微囊藻和斜生栅藻在光照强度为 5、50、 $100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,藻细胞粒径分别为 3.04、3.13、3.27、7.00、7.19、7.56 μm ,斜生栅藻平均藻细胞粒径($7.24 \pm 0.79 \mu\text{m}$)是铜绿微囊藻粒径($3.14 \pm 0.43 \mu\text{m}$)的 2 倍.许多研究均表明,随细胞粒径增加,浮游植物比吸收系数明显降低^[11,13,16].

另外光照强度还影响了两种藻 440、675 nm 比吸收系数极值到达的时间.在高光照强度下,铜绿微囊藻 440、675 nm 比吸收系数极小值都出现在培养的第 9 d,分别为 0.0330 、 $0.0154 \text{ m}^2/(\text{mg Chl.a})$ (表 2);而在 $50 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 条件下,两者的极小值出现在培养的最后一天;对于弱光照条件而言,440 和 675 nm 比吸收系数极小值出现在培养期的第 13 d.铜绿微囊藻 440、675 nm 吸收系数在不同光照强度下的极大值都出现在培养的前 3 d.对于斜生栅藻,440、675 nm 比吸收系数最小值出现在藻类生长的指数期,而最大值出现在生长阶段的后期.440、675 nm 处最大值与最小值之差最大仅为 0.0049 、 0.0029 (表 2),其比吸收系数光谱相对于铜绿微囊藻而言在整个培养时期内最为一致(图 6d、6e、6f).周虹丽等^[9]也证实 440、675 nm 比吸收系数极值出现时间保持相对一致可能是由色素组成及色素包裹效应所致.

浮游植物比吸收系数与 Chl.a 浓度之间的非线性关系已有诸多文献报道^[26-27],在本研究中分别对两种

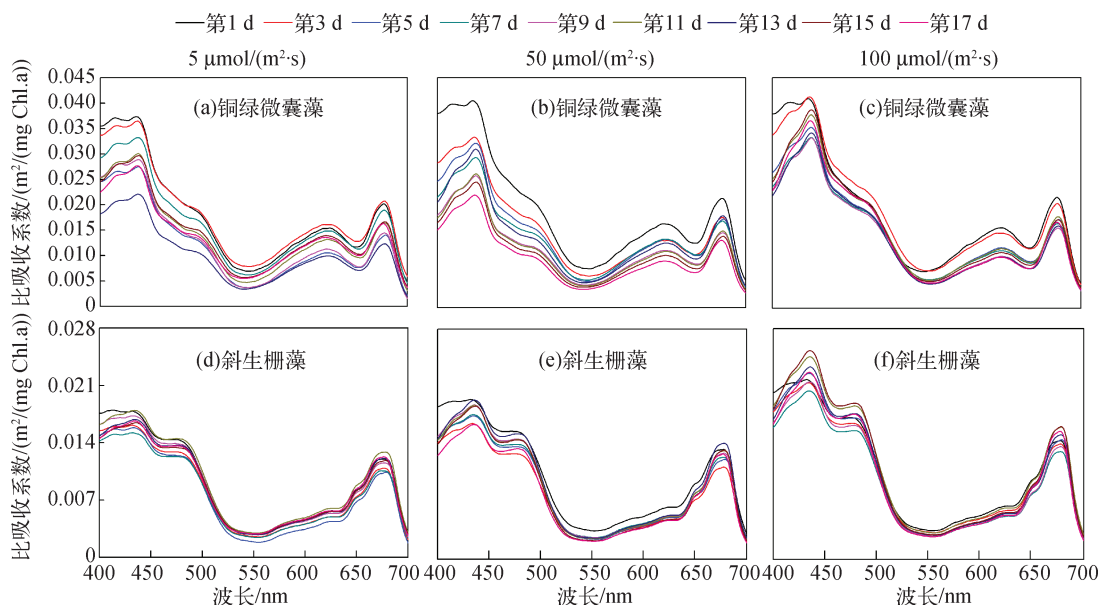


图6 不同光照强度下铜绿微囊藻及斜生栅藻在不同培养时期的比吸收光谱

Fig. 6 Specific absorption spectra of *M. aeruginosa* and *S. obliquus* in different culture times at different irradiation intensities

藻不同光照条件下的440、675 nm处比吸收系数与Chl.a浓度进行非线性拟合,结果表明,铜绿微囊藻在不同光照条件下比吸收系数与Chl.a浓度都存在着显著负相关,并有着幂函数关系,说明在室内培养的铜绿微囊藻在这两个峰都有色素包裹效应.对比440和675 nm处吸收系数,都存在如下规律: $R^2 \{ (\text{Chl.a}) - a_{ph}^*(440) \} > R^2 \{ (\text{Chl.a}) - a_{ph}^*(675) \}$.当光照强度分别为5、50、100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,675、440 nm比吸收系数与Chl.a幂函数拟合的决定系数 R^2 的值分别为0.461、0.675、0.552、0.684、0.227、0.467.铜绿微囊藻比吸收系数随着Chl.a浓度的增加而减小.对于斜生栅藻而言,比吸收系数与Chl.a浓度基本没有关系,实验条件下并没有明显的包裹效应.当光照强度分别为5、50、100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,Chl.a浓度分别在339.7 ~ 1312.9、338.0 ~ 2762.5、366.2 ~ 4837.7 $\mu\text{g}/\text{L}$ 变化范围内时,斜生栅藻440 nm比吸收系数变化范围很小,分别在0.0138 ~ 0.0211、0.0142 ~ 0.0231、0.0176 ~ 0.0275 $\text{m}^2/(\text{mg Chl.a})$ 之间.

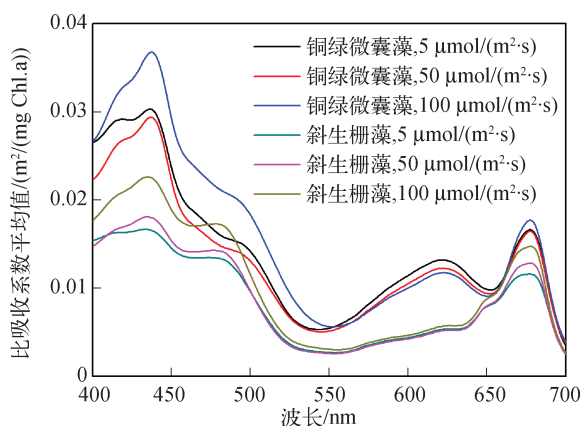


图7 不同光照强度下铜绿微囊藻及斜生栅藻的比吸收系数平均光谱

Fig. 7 Average specific absorption spectra of *M. aeruginosa* and *S. obliquus* at different irradiation intensities

3 结论

1) 光照强度对铜绿微囊藻及斜生栅藻生长趋势有着显著的影响.在50 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 中光照强度下,两种藻的生长趋势最好.铜绿微囊藻受高光照强度的抑制比斜生栅藻明显,在培养的后期生长逐渐缓慢.低光照条件对两种藻的生长都有着不利的影响.

2) 光照强度对两种藻吸收系数有着显著的影响,在各个培养阶段,有着适宜光照条件(50 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$)下的两种藻吸收系数最

大,而光能不足时吸收系数最小。Chl.a 浓度与藻类特征波段 440、675 nm 吸收系数存在着幂函数的关系,而线性关系能更好地说明藻细胞密度与吸收系数之间的关系。

表 2 不同光照强度下铜绿微囊藻及斜生栅藻在整个培养期内比吸收系数值($\text{m}^2/(\text{mg Chl.a})$)

Tab.2 Specific absorption coefficients of *M. aeruginosa* and *S. obliquus* in the whole culture time at different irradiation intensities

藻种	光照强度	440 nm					675 nm				
		平均值	标准差	中值	最大值	最小值	平均值	标准差	中值	最大值	最小值
铜绿微囊藻	5 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$	0.0298	0.0046	0.0294	0.0364	0.0218	0.0164	0.0029	0.0162	0.0205	0.0121
	50 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$	0.0290	0.0054	0.0291	0.0394	0.0216	0.0162	0.0025	0.0167	0.0212	0.0131
	100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$	0.0364	0.0028	0.0361	0.0406	0.0330	0.0174	0.0020	0.0168	0.0215	0.0154
斜生栅藻	5 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$	0.0163	0.0009	0.0163	0.0176	0.0149	0.0116	0.0008	0.0117	0.0128	0.0103
	50 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$	0.0178	0.0011	0.0184	0.0191	0.0161	0.0127	0.0008	0.0128	0.0140	0.0111
	100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$	0.0222	0.0016	0.0221	0.0249	0.0200	0.0146	0.0010	0.0143	0.0159	0.0130

3) 在不同的光照条件以及不同的培养时期,两种藻的比吸收系数在一定的范围内波动,但趋势基本相同,其中高光照条件下比吸收系数值相对比较大,表现出比吸收系数随着光强的增大而增大的趋势。铜绿微囊藻比吸收系数比斜生栅藻大,可能是由于藻细胞粒径不同导致。另外铜绿微囊藻在任一光照条件下比吸收系数与 Chl.a 浓度存在着显著的负相关,而纯培养的斜生栅藻比吸收系数则与 Chl.a 浓度基本没有关系。

致谢:中国科学院水生生物研究所为本研究提供了藻种,在此深表感谢。

4 参考文献

- [1] 韩冰,周虹丽,朱建华等. 实验室混合藻种的光谱分解方法研究. 海洋技术,2009,28(4):58-62.
- [2] 孙德勇,李云梅,王桥等. 太湖水体中悬浮颗粒物的比吸收光谱特性及其参数化分析. 环境科学学报,2009,29(9):1820-1829.
- [3] Dall'Olmo G, Gitelson AA. Effect of bio-optical parameter variability on the remote estimation of chlorophyll-a concentration in turbid productive waters: experimental results. *Applied Optics*, 2005, 44(3): 412-442.
- [4] Hubert L, Lubac B, Dessailly D *et al.* Effect of inherent optical properties variability on the chlorophyll retrieval from ocean color remote sensing: an *in situ* approach. *Optics Express*, 2010, 18(20): 20949-20959.
- [5] Uitz J, Claustre H, Gentili B *et al.* Phytoplankton class-specific primary production in the world's oceans: seasonal and interannual variability from satellite observations. *Global Biogeochemical Cycles*, 2010, 24, GB3016 (doi: 10. 1029/2009GB003680).
- [6] Sathyendranath S, Stuart V, Platt T *et al.* Remote sensing of ocean colour: Towards algorithms for retrieval of pigment composition. *Indian Journal of Marine Sciences*, 2005, 34(4): 333-340.
- [7] Mouw CB, Yoder JA. Optical determination of phytoplankton size composition from global SeaWiFS imagery. *Journal of Geophysical Research*, 2010, 115, C12018 (doi:10. 1029/2010JC006337).
- [8] Sathyendranath S, Watts L, Devred E *et al.* Discrimination of diatoms from other phytoplankton using ocean-colour data. *Marine Ecology Progress Series*, 2004, 272: 59-68.
- [9] 周虹丽,朱建华,韩冰等. 几种典型藻种吸收光谱特性的比较. 海洋技术,2010,29(3):78-81.
- [10] Eduardo M, Roberto M. Specific absorption coefficient and phytoplankton community structure in the southern region of the California current during January 2002. *Journal of Oceanography*, 2010, 66(5): 719-730.
- [11] Bricaud A, Claustre H, Ras J *et al.* Natural variability of phytoplanktonic absorption in oceanic waters: Influence of the size structure of algal populations. *Journal of Geophysical Research*, 2004, 109, C11010: 1-12 (doi: 10, 1029/2004JC002419).
- [12] Matsuoka A, Larouche P, Poulin M *et al.* Phytoplankton community adaptation to changing light levels in the southern Beaufort Sea, Canadian Arctic. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2009, 82(3): 537-546.
- [13] Sathyendranath S, Lazzara L, Prieur L. Variations in the spectral values of specific absorption of phytoplankton. *Limnology*

- gy and Oceanography, 1987, **32**(2): 403-415.
- [14] Zhang YL, Feng LQ, Li JS *et al.* Seasonal-spatial variation and remote sensing of phytoplankton absorption in Lake Taihu, a large eutrophic and shallow lake in China. *Journal of Plankton Research*, 2010, **32**(7): 1023-1037.
 - [15] Chen YW, Qin BQ, Teubner K *et al.* Long-term dynamics of phytoplankton assemblages: *Microcystis*-domination in Lake Taihu, a large shallow lake in China. *Journal of Plankton Research*, 2003, **25**(1): 445-453.
 - [16] Fujiki T, Taguchi S. Variability in chlorophyll a specific absorption coefficient in marine phytoplankton as a function of cell size and irradiance. *Journal of Plankton Research*, 2002, **24**(9): 859-874.
 - [17] 胡小贞, 金相灿, 储昭升等. 太湖铜绿微囊藻与四尾栅藻的光竞争及模拟优势过程初探. 农业环境科学学报, 2005, **24**(3): 538-543.
 - [18] 陈宇炜, 陈开宁, 胡耀辉. 浮游植物叶绿素 a 测定的“热乙醇法”及其测定误差的探讨. 湖泊科学, 2006, **18**(5): 550-552.
 - [19] Mitchell BG. Algorithms for determining the absorption coefficient of aquatic particulates using the quantitative filter technique (QFT). *Proceeding of SPIE*, 1990, **1302**: 137-148.
 - [20] Tassan S, Ferrari GM. A sensitivity analysis of the ‘transmittance-reflectance’ method for measuring light absorption by aquatic particles. *Journal of Plankton Research*, 2002, **24**(8): 757-774.
 - [21] Stramski D, Sciandra A, Claustre H. Effects of temperature, nitrogen, and light limitation on the optical properties of the marine diatom *Thalassiosira pseudonana*. *Limnology and Oceanography*, 2002, **47**(2): 392-403.
 - [22] Wang HX, Qin YC, Sun XW *et al.* Effects of light intensity on the growth of *Cryptomonas* sp. (Cryptophyceae). *Environmental Geology*, 2009, **57**(1): 9-15.
 - [23] 陈书秀, 梁 英. 光照强度对雨生红球藻叶绿素荧光特性及虾青素含量的影响. 南方水产, 2009, **5**(1): 1-8.
 - [24] Simis SGH, Ruiz-Verdu A, Dominguez-Gomez JA *et al.* Influence of phytoplankton pigment composition on remote sensing of cyanobacterial biomass. *Remote Sensing of Environment*, 2007, **106**(4): 414-427.
 - [25] Hunter PD, Tyler AN, Willby NJ *et al.* The spatial dynamics of vertical migration by *Microcystis aeruginosa* in a eutrophic shallow lake: A case study using high spatial resolution time-series airborne remote sensing. *Limnology and Oceanography*, 2008, **53**(6): 2391-2406.
 - [26] Le CF, Li YM, Zha Y *et al.* Specific absorption coefficient and the phytoplankton package effect in Lake Taihu, China. *Hydrobiologia*, 2009, **619**(1): 27-37.
 - [27] 王桂芬, 曹文熙, 许大志等. 南海北部水体浮游植物比吸收系数的变化. 热带海洋学报, 2005, **24**(5): 1-10.