

不同光照周期对铜绿微囊藻和绿色微囊藻生长的影响*

沈英嘉 陈德辉**

(上海师范大学生命与环境科学学院, 上海 200234)

提 要 研究了不同光照周期对铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 和绿色微囊藻 (*Microcystis viridis*) 生长的影响. 按光照周期不同将两种微囊藻各分为五组: 处理组 I [2L/22D]、II [5L/19D]、III [7L/17D]、IV [9L/15D]、对照组 [12L/12D], 试验期为 20d. 试验表明铜绿微囊藻实验中处理组 IV [9L/15D] 的比增长率和最大细胞数均最大, 超过了对照组 [12L/12D]. 绿色微囊藻实验中对对照组 [12L/12D] 的最大细胞数和比增长率最大. 随光照周期的延长两种微囊藻的最大细胞数有增加的趋势. 绿色微囊藻对光照周期较铜绿微囊藻敏感. 两种微囊藻在每日 2h 的光照周期下生长均受到抑制.

关键词 光照周期 铜绿微囊藻 绿色微囊藻 生长影响

分类号 Q949.22

微囊藻是一类全球性分布的蓝藻类, 它们在富营养化湖泊中形成“水华”, 进而对水生态环境造成严重影响^[1]. 铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 与绿色微囊藻 (*Microcystis viridis*) 同是形成水华的浮游蓝藻, 并且这两种藻往往出现在同一次水华中, 不同的时期这两种藻的优势度也不同, 从而形成不同类型的微囊藻水华^[2]. 因此深入研究两种微囊藻生长的环境条件, 对于揭示水华发生机理及其防治有着重要意义.

光是影响微囊藻生长繁殖的最重要的生态因子之一, 也是其生长的主要能量来源. 在一定 pH、温度和营养条件下, 光影响着光合作用产物的多少, 从而影响藻类的生长繁殖和密度^[3], 而目前仍缺少单细胞藻类的光周期研究资料^[4]. 本研究应用实验生态手段, 参照 AGP 试验的方法, 在相同 pH、光强和营养条件下, 确定不同光照周期对铜绿微囊藻和绿色微囊藻生长的影响. 通过对这两种形成水华的浮游蓝藻在不同光周期下生长动态的分析和讨论, 为控制水华形成及其防治提供基本资料.

1 材料和方法

1.1 材料

实验藻种为铜绿微囊藻和绿色微囊藻, 藻种均来自中国科学院水生生物研究所藻种库 (FACHLB).

1.2 藻液制备

无菌倒取藻液, 3500 - 4000r/min 离心 5 - 10min, 弃去上清液, 藻体液用 15mg/L NaHCO₃ 洗涤两遍后作为接种藻液. 以每个三角瓶 100mL 计, 接种后绿色微囊藻的初始密度为 OD 值 (450nm) 0.002 (3.42 × 10⁵ cells/mL), 铜绿微囊藻的初始密度为 OD 值 (450nm) 0.005 (1.26 × 10⁵ cells/mL) 进行接种.

1.3 实验设计

两藻种按光照周期不同各分为五个处理组: 处理组 I [2L/22D]、II [5L/19D]、III [7L/17D]、IV [9L/15D] 和对照组 [12L/12D]. 每组四个平行. 取其中 3 个平行的细胞数和比增长率的平均数作为该组微囊藻生长情况的指标, 一个用于 OD 值与细胞数回归曲线的制作. 实验期为 20d.

1.4 培养条件

选用 HGZ 培养基作为两种微囊藻的培养基, 其每升培养液含有以下营养成分: NaNO₃, 496mg; K₂HPO₄,

* 2003 - 04 - 24 收稿; 2003 - 07 - 14 收修改稿. 沈英嘉, 男, 1980 年生, 硕士研究生.

** 通讯作者.

39mg; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 75mg; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 36mg; $Na_2SiO_3 \cdot 9H_2O$, 58mg; PIV 金属溶液, 3mL; 土壤浸取物, 3mL(pH 调至 8.5)。光源为日光灯光源(2150 lux), 用 SB6717 型 24h 程控电子定时器控制光照周期。不同的处理组之间以不透光的黑纸相互隔开。无光照期间温度为 $23 \pm 1^\circ C$, 光照期间温度为 $29 \pm 1^\circ C$ 。在光照期间, 每天摇动培养瓶 3-4 次。

1.5 细胞数的测定和最大比增长率(μ_{max})的计算

以 OD 值(450nm)测定为主, 利用 OD 值和细胞数的关系计算整个生长期的细胞数, 并以各处理组的细胞数最大值作为指标, 同时利用细胞数计算生长率。OD 值的测定从接种日起, 每两天在同一时间用 450nm 波长测定。计数自接种日起, 每 4d 在同一时间, 采用 0.1mL 平板计数法。在单筒显微镜下, 进行细胞计数。比增长率的计算公式 $\mu = \ln(x_n/x_{n-1}) / (t_n - t_{n-1})$, 式中 μ 为比增长率; x_n , x_{n-1} 分别为当天和 2d 前的 OD 值; t_n , t_{n-1} 分别为对应于 x_n , x_{n-1} 的培养时间(d)。

1.6 统计方法

所用数据用方差分析、多重比较、 q 检验等进行显著性测定。回归分析根据 Excel5.0 上的程序包操作。

2 结果与分析

2.1 OD 值(450nm)与细胞数的回归方程

在 450nm 下铜绿微囊藻, 绿色微囊藻各处理组的 OD 值对细胞数的回归方程见表 1。表中各组中, y 代表细胞数($\times 10^5$ 个/mL), x 为 OD 值, 铜绿微囊藻与绿色微囊藻各处理组均通过了显著性检验。

表 1 铜绿微囊藻、绿色微囊藻各处理组的 OD 值(450nm)对细胞数的回归方程
Tab. 1 Regression equation between 10^5 cells/mL and the OD value of *M. aeruginosa* and *M. viridis*

处理组 I	处理组 II	处理组 III	处理组 IV	对照组
A. 铜绿微囊藻(<i>M. aeruginosa</i>)				
$y = 196.77x + 0.2434$ $r = 0.9789$	$y = 253.56x - 0.9383$ $r = 0.9960$	$y = 245.29x - 2.2734$ $r = 0.9962$	$y = 241.3x - 0.8441$ $r = 0.9968$	$y = 255.48x - 0.8988$ $r = 0.993$
B. 绿色微囊藻(<i>M. viridis</i>)				
$y = 1392.3x + 0.5777$ $r = 0.963$	$y = 1778.3x - 0.7633$ $r = 0.9993$	$y = 1912x + 10.533$ $r = 0.989$	$y = 2047.7x + 5.6524$ $r = 0.9979$	$y = 1992.7x - 4.737$ $r = 0.989$

2.2 铜绿微囊藻与绿色微囊藻各处理组生长曲线

在 HGZ 培养基中, 接种培养的各组铜绿微囊藻除处理组 I 外在第 4d 到第 18d 处于指数生长期, 第 18d 以后进入生长稳定期, 处理组 I 没有明显的指数生长期; 绿色微囊藻各组在 0 到第 8d 处于潜伏期, 从第 8d 起除处理组 I 外都处于指数生长期, 处理组 I 没有明显的指数生长期(图 1)。

2.3 铜绿微囊藻与绿色微囊藻各处理组最大比增长率及其方差分析

从计算结果来看, 铜绿微囊藻各光照处理组最大比增长率的总体趋势是随光照周期的延长而增大, 但是光照最长的并非最大比增长率最大, 9h 光照组的最大比增长率最高, 超过了对照组。而绿色微囊藻最大比增长率与光照周期之间没有明显的规律, 其中光照最长的对照组的最大比增长率数值最高, 而 5h 光照组的最大比增长率其次, 超过了 7h 光照组和 9h 光照组(表 2)。由方差分析可知铜绿微囊藻各光照处理组的最大比增长率差异不显著; 而绿色微囊藻各光照处理组的最大比增长率差异极显著。经过多重比较可知其中 12h 对照组对 2h、7h 光照组的差异极显著, 对 5h、9h 光照组的差异达到显著水平, 5h 光照组对 2h 光照组的差异及也达到显著水平。

2.4 铜绿微囊藻与绿色微囊藻各处理组最大细胞数及方差分析

铜绿微囊藻的各处理组的最大细胞数总体趋势是随光照周期的延长而增大, 但是光照最长的并非最大细胞数最大, 9h 光照组最大细胞数最高, 9h 光照组和 7h 光照组最大细胞数均超过了 12h 光照的对照组。绿色微囊藻各处理组的最大细胞数的趋势是随光照周期的延长而增大, 对照组的最大细胞数明显高于其余各

组(表2)。铜绿微囊藻各光照处理组的最大细胞数之间差异极为显著。经过多重比较可知其中12h、9h、7h光照组对2h光照组以及7h光照组对5h光照组的差异达到显著水平。而绿色微囊藻各光照处理组的最大细胞数差异极为显著。经过多重比较可知各光照处理组之间的差异均达到了极显著水平。

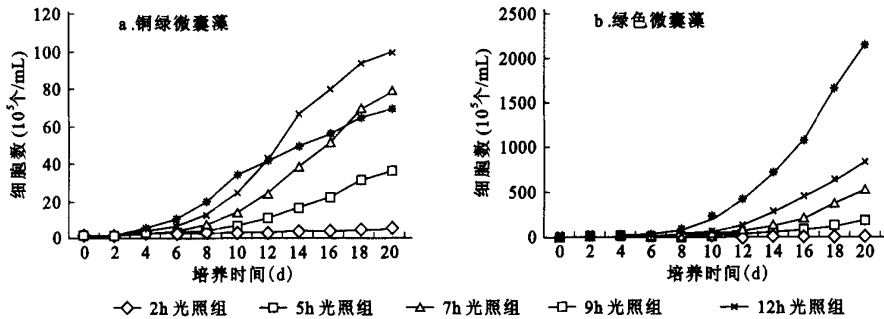


图1 光照周期对铜绿微囊藻(左)、绿色微囊藻(右)生长的影响

Fig. 1 Effect of different light cycle on growth of *M. aeruginosa* (left) and *M. viridis* (right)

3 分析和讨论

实验设计五个光照周期梯度, 对照组光照周期设为12h, 接近自然条件下的光照情况。在自然环境下不同季节的昼夜长短不同, 水体中藻类所接受的光照时间在一年中呈周期性变化, 设置不同光周期的四个处理组来研究不同光照周期对微囊藻生长的影响。

在铜绿微囊藻的实验中, 随光照周期的延长其最大比增长率和最大细胞数也在增加。然而当每天的光照周期继续增加时微囊藻的生长受到抑制。9h光照组的最大比增长率和最大细胞数均为最大, 超过了12h光照的对照组。可见并非光照周期越长, 其生长情况就越好。微囊藻有其最适宜的光照周期, 其原因可能是藻类的生长需要一个适当的光暗交替, 以利于光合过程的光反应和暗反应的匹配以及其光合产物的形成和体内的物质代谢的正常进行^[5,6]。

在铜绿微囊藻的实验培养过程中, 当第12天时9h光照组的细胞数超过了12h光照的对照组, 这可能是由于光照时间长的组中藻类呼吸作用相对较强, 培养基中营养物质的消耗大于光照时间较低的组所导致的。在绿色微囊藻的实验中, 各处理组的最大细胞数之间差异极显著, 最大细胞数随光照周期的延长而增大, 而最大比增长率与光照周期之间没有明显的规律, 12h光照的对照组其最大细胞数和最大比增长率均为最大。两种微囊藻在每日2h的光照条件下生长受到抑制, 不出现明显的指数生长期。由于微囊藻水华一般爆发在5-11月, 在此期间全国各地区昼长在11h以上, 而在本实验中铜绿微囊藻9h光照

表2 铜绿微囊藻、绿色微囊藻各处理组最大比增长率、最大细胞数方差分析

Tab. 2 The analysis of variance (AOV) of maximum specific growth rate and b_{max} of *M. aeruginosa* and *M. viridis*

差异源	SS	df	MS	F	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
A. 铜绿微囊藻 (<i>M. aeruginosa</i>), 最大比增长率						
光照间	0.025	4	0.006	0.564	3.478	5.994
组内	0.110	10	0.011			
总计	0.135	14				
B. 绿色微囊藻 (<i>M. viridis</i>), 最大比增长率						
光照间	0.073	4	0.018	9.319**	3.478	5.994
组内	0.0197	10	0.001			
总计	0.093	14				
C. 铜绿微囊藻 (<i>M. aeruginosa</i>), 最大细胞数						
光照间	0.307	4	0.077	8.536**	3.478	5.994
组内	0.090	10	0.009			
总计	0.397	14				
D. 绿色微囊藻 (<i>M. viridis</i>), 最大细胞数						
光照间	2.010	4	0.503	467.346**	3.478	5.994
组内	0.011	10	0.001			
总计	2.021	14				

组(表2)。铜绿微囊藻各光照处理组的最大细胞数之间差异极为显著。经过多重比较可知其中12h、9h、7h光照组对2h光照组以及7h光照组对5h光照组的差异达到显著水平。而绿色微囊藻各光照处理组的最大细胞数差异极为显著。经过多重比较可知各光照处理组之间的差异均达到了极显著水平。

为最适光照周期,这表明可能与光照周期相比,温度对微囊藻生长的作用更为重要。

比较铜绿微囊藻和绿色微囊藻可见,绿色微囊藻各处理组之间的差异较铜绿微囊藻显著,对不同光照周期较为敏感。铜绿微囊藻 9h 光照组在五个处理组中生长情况最好,其最大细胞数和最大比增长率均为最大。而绿色微囊藻 12h 光照对照组生长情况最好,可见不同藻种有其各自的最适光照周期。但每日 9h 光照和 12h 光照是否就是这两个藻种的最适光照周期还有待进一步实验的探讨。

参 考 文 献

- 1 林毅雄,韩 梅. 滇池富营养化的铜绿微囊藻生长因素的研究. 环境科学进展,1998,6(3):82-87
- 2 李仁辉,何振荣,何家苑. 中国新记录蓝藻——绿色微囊藻及其毒性的初步研究. 水生生物学报,1993,17(3):282-284
- 3 孙儒泳,李 博,诸葛阳等编著. 普通生态学. 北京:高等教育出版社,1993
- 4 王 伟,林均民. 藻类的光控. 发育植物学通报,1998,17(5):31-39
- 5 李乐农,郭宝江. 光照周期对螺旋藻生长的影响. 海洋科学,1998,3:3-4
- 6 Lena Suzuki, Carl Hirschbie Johnson. Algae know the time of day: circadian and photoperiodic programs. *J Phycol*, 2001,37: 933-942
- 7 金相灿,屠清瑛编著. 湖泊富营养化调查规范. 北京:中国环境科学出版社,1990
- 8 章宗涉,黄祥飞编著. 淡水浮游生物研究方法. 北京:科学出版社,1991
- 9 Louis van Liere. On *oscillatoria agardhii* gomont. Zeist: De Nieuwe Schouw Press,1979

Effect of Different Light Cycle on Growth of *Microcystis aeruginosa* and *Microcystis viridis*

SHEN Yingjia & CHEN Dehui

(College of Life and Environment Sciences, Shanghai Teachers University, Shanghai 200234, P. R. China)

Abstract

This paper dealt with the effect of different light cycle on growth of *M. aeruginosa* and *M. viridis*. According to the light cycle, both species was divided into five treatments: [2L/22D], [5L/19D], [7L/17D], [9L/15D] and controlled[12L/12D]; and the experiment was lasted 20 days. The results showed that the treatment [9L/15D] of *M. aeruginosa* had the highest μ_{max} and b_{max} whiel *M. viridis* had the highest μ_{max} and b_{max} in the controlled treatment [12L/12D]. The μ_{max} and b_{max} of both species increased following the increasing rate of light cycle.

Keywords: Light cycle; *Microcystis aeruginosa*; *Microcystis viridis*; effect on growth