

氮磷对水华束丝藻生长及生理特性的影响

刘永梅^{1,2} 刘永定¹ 李敦海¹ 沈银武¹

(1. 中国科学院水生生物研究所淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072; 2. 武汉大学药学院, 武汉 430072)

摘要:从滇池分离得到水华束丝藻藻株,以BG11为基础培养基,在(25±1)℃,光照强度20μE/m²·s,光/暗周期为16h:8h的培养条件下,水华束丝藻的生长周期约为28d,以光密度(OD₆₆₅)为指标的生长曲线符合典型的“S”型;在实验浓度范围内,N、P的浓度变化均对水华束丝藻的生长产生影响,在一定范围内([NO₃⁻-N]:1.6—245.1 mg/L; [PO₄³⁻-P]:0.3—1.4 mg/L),高浓度的N、P有利于水华束丝藻的生长,但浓度过高([NO₃⁻-N] > 245.1 mg/L; [PO₄³⁻-P] > 6.9 mg/L)时,则对其生长产生抑制作用;N、P在缺乏和浓度很低时可对水华束丝藻光系统II活性(Fv/Fm)产生显著影响(p < 0.01);本实验结果还表明,N、P浓度的改变可影响水华束丝藻硝酸还原酶、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶的活性;在低N、P浓度下,水华束丝藻的硝酸还原酶和酸性磷酸酶活性升高,显著高于正常BG11培养时的活性(p < 0.05)。这一结果表明,在低N、P营养环境中,水华束丝藻可通过调节自身的酶系统来提高对营养的吸收和利用,从而满足自身生长和细胞增殖的需要。

关键词: 蓝藻水华; 水华束丝藻; 氮; 磷; 硝酸还原酶; 酸性/碱性磷酸酶; 光合效能

中图分类号: Q935 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2007)06-0774-06

随着工农业的迅速发展和人口剧增,大量的工业废水和生活污水过度排放,导致我国淡水水体富营养化程度日益加剧,随之而来的蓝藻水华的污染也成为我国淡水水体中存在的严重问题^[1-3],尤其是有毒蓝藻水华对水环境的危害和生物安全性问题日益引起更为广泛的关注。因此,对水华蓝藻,尤其是产毒水华蓝藻生物学特性的研究也成为防治蓝藻水华,减少其危害的基础研究。

水华束丝藻是淡水水华蓝藻中常见的优势种,某些地区发现的束丝藻水华可产生生物碱类神经毒素,专一性地阻断细胞膜上的Na⁺通道,从而阻断神经信号的传导,造成肌肉麻痹,呼吸困难而导致动物死亡^[4]。这类毒素毒性大、作用时间短,且一般中毒后无对症的治疗药物和方法,因此被称为“快速致死因子”^[5]。国外对该藻类的毒素的明确报道出现在20世纪90年代,其研究重点曾一度集中在束丝藻毒素的化学结构及分析上,而对其生长发育和生理生态研究则相对较少;在国内,由于各种条件的限制,对束丝藻的研究开展得较少。因此,针对日益严

重的湖泊富营养化和蓝藻水华的暴发,对水华蓝藻,尤其是产毒蓝藻的生物学特性研究也成为急需,以期对蓝藻水华的预警和控制提供科学依据。

研究者所在的课题组近年来对我国蓝藻水华发生严重的富营养化湖泊滇池的监测数据显示,水华束丝藻在每年的秋冬至次年的早春季节大量繁殖,形成水华。笔者曾对2003年3月滇池发生的束丝藻水华毒性进行检测,发现滇池束丝藻水华粗提物对小白鼠具急性毒性作用,可在几分钟内使小白鼠致死^[6],低剂量暴露实验中对小白鼠表现出肝、肺组织细胞超微结构的损伤,并对小鼠抗氧化系统造成损伤^[7]。

本工作通过对滇池分离得到的一株水华束丝藻在不同氮磷浓度培养时的生长状况及硝酸还原酶(Nitrate reductase, NR)、酸性磷酸酶(Acid phosphatase, ACP)、碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, ALP)和光系统II活性(以叶绿素荧光效能表示, Fv/Fm)的研究,初步揭示了水华束丝藻生理生化特征。

收稿日期:2006-01-09;修订日期:2007-12-27

基金项目:国家973计划[2002CB412300];国家重大科技专项(2002AA601011)资助

作者简介:刘永梅(1979—),女,河南唐河县人;博士;主要从事藻类毒素及生物活性多糖研究。E-mail:liuyemei@ihb.ac.cn

通讯作者:刘永定,E-mail:liuyd@ihb.ac.cn

1 材料与方法

1.1 藻种分离与培养 从云南滇池采集水华样品,用毛细管分离法得到单克隆藻株,并采用涂平板和溶菌酶处理的方法获得无菌培养物,以 BG11 培养基保种和培养。实验培养物的培养条件:温度(25 ± 1)℃,光照强度 20 μE/m²·s,培养基 pH 8.0。

1.2 实验方法

1.2.1 水华束丝藻生长曲线测定 将培养 10 天左右的藻种用无菌双蒸水洗涤两遍后按一定的密度重新接种到 BG11 培养基中,在上述培养条件下,每天摇匀后取样 3 mL,于 UV3000 紫外/可见分光光度计(Ultrospec® 3000, Pharmacia Biotech, Biochrom

Ltd., England)上直接测定培养物在 665 nm 的吸光度值,以此表示水华束丝藻的生长^[8]。比生长速率计算: $\mu = (A_{t1} - A_{t2}) / \Delta t$; 式中: μ —比生长速率; A_{t1} —培养物在 t_1 时刻的吸光度值; A_{t2} —培养物在 t_2 时刻的吸光度值; Δt —两次测定之间的时间间隔, d。

1.2.2 不同 N、P 浓度对水华束丝藻生长的影响

以 BG11 为基础培养基,调整 NO₃⁻-N、PO₄³⁻-P 的浓度,按上述生长测定方法,测定在不同 NO₃⁻-N、PO₄³⁻-P 的浓度下,束丝藻的生长情况。整个实验期间控制培养温度在(25 ± 1)℃,光照为 40 μE/m²·s。表 1 列出了实验中所用的 NO₃⁻-N、PO₄³⁻-P 的浓度。

表 1 实验用培养基中 NO₃⁻-N、PO₄³⁻-P 的浓度

Tab.1 Concentrations of NO₃⁻-N、PO₄³⁻-P used in this experiment

编号 No.	NO ₃ ⁻ -N (mg/L)							PO ₄ ³⁻ -P (mg/L)								
	N-0	N-1	N-2	N-3	N-4	N-5	N-6	N-7	P-0	P-1	P-2	P-3	P-4	P-5	P-6	P-7
浓度 Concentration	0	6.2	12.4	24.8	61.8	123.5	247.1	494.2	0	0.14	0.27	0.54	1.35	2.7	5.4	10.8

1.2.3 N、P 对水华束丝藻叶绿素荧光(Fv/Fm)的影响 在调整 NO₃⁻-N、PO₄³⁻-P 浓度,其他培养条件保持不变的情况下,于对数生长期取样 3 mL,用浮游植物效率分析仪(PHYTO-PAM, Walz GmbH, Germany)测定培养物的叶绿素荧光强度。样品经暗适应后,所测得的最大光量子产率(Yield)反映了藻细胞光系统 II(PS II)光化学能量的转变,即通常的 Fv/Fm (Fv, 可变荧光; Fm, 最大荧光)^[9]。

1.2.4 酶的提取 取 3 mL 处于对数生长期的不同 N、P 浓度培养的水华束丝藻培养物,离心(4℃, 5000 r/min × 8min),弃上清,加入 2 mL 预冷的磷酸缓冲液(0.2 mol/L, pH 7.8),冰浴匀浆或超声波细胞破碎仪破碎藻细胞。将匀浆液离心(4℃, 9000 r/min × 15min),上清液即为酶粗提取液,立即用于分析或 -20℃ 以下保存。

1.2.5 硝酸还原酶活性测定 硝酸还原酶(NR)活性的测定参照 Chaman and Harrison^[10]和《植物生理生化实验原理和技术》^[11]中的方法,并略有改进。取 1 mL 酶提取液,加入 1 mL 0.1 mol/L 的 KNO₃ 溶液,黑暗条件下于 30℃ 水浴中保温 30min 后,取 1 mL 反应液,加入 1 mL 磺胺(1%, 溶于 3 mol/L 的盐酸溶液)终止反应,再加 1 mL α-萘胺(0.02%),室温显色 15min 后,于分光光度计上测定反应液在 520 nm 处的吸光度值(OD₅₂₀)。酶活性以单位时间内催化还原硝酸盐生成亚硝酸盐的量来表示(μg/mg Pro/h)。

1.2.6 酸性/碱性磷酸酶活性的测定 酸性/碱性磷酸酶(ACP/ALP)活性测定以对硝基苯磷酸二钠(p-NPP)为反应底物^[12-13]。酸性磷酸酶测定取 0.5 mL 酶提取液,加入 2 mL p-NPP(5 mmol/L, 溶于醋酸盐缓冲液, pH 5.6), 25℃ 恒温反应 60min, 结束后立即加入 1 mL 0.5 mol/L 的 NaOH 溶液终止酶促反应,用分光光度计测定反应物在 400 nm 处的吸光度值。酶活性以单位时间内水解 p-NPP 生成的对硝基苯酚(4-Nitrophenol)的量来表示(μg/mg Pro/h)碱性磷酸酶活性的测定方法与酸性磷酸酶类似,仅需将反应体系中醋酸盐缓冲液改为碳酸盐缓冲液(pH 8.2)。

1.2.7 数据分析 本实验中对叶绿素荧光测定和酶活力检测结果均采用 SPSS11.5 统计分析软件进行方差分析和组间差异显著性检验(One-way ANOVA, Tukey)。

2 结果

2.1 水华束丝藻在 BG11 培养基中的生长情况

在此实验条件下,水华束丝藻生长周期约为 28 天左右,培养 10 天左右开始进入对数生长期,大约 22 天后进入稳定生长期,持续 6 天左右,即进入下降期,整个生长周期符合典型的“S”型曲线(图 1)。各生长阶段其比生长速率分别为:生长延滞期: $\mu = 0.042$, 对数生长期: $\mu = 0.123$, 平稳期: $\mu = 0.0025$, 下

降期： $\mu = -0.015$ (μ , 比生长速率)。

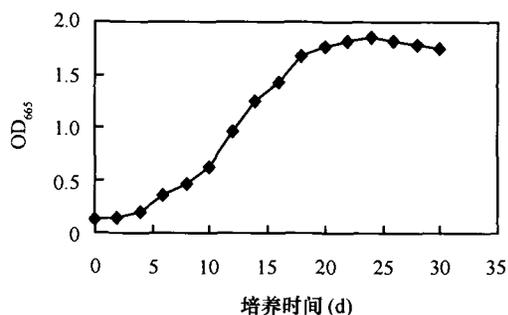


图1 水华束丝藻在BG11中的生长曲线

Fig. 1 The growth curve of *A. flos-aquae* in BG11 medium

2.2 N、P 浓度对水华束丝藻生长的影响

N、P 浓度是藻类生长所必需的营养元素,一定范围内,浓度较高的 N、P 有利于藻类的生长,但浓度过高时,则会对其生长产生抑制作用。实验结果表明,实验室培养的水华束丝藻株较适的 N、P 浓度范围分别是 N:24.8—247.1 mg/L, P:0.54—10.8 mg/L(图 2,3)。

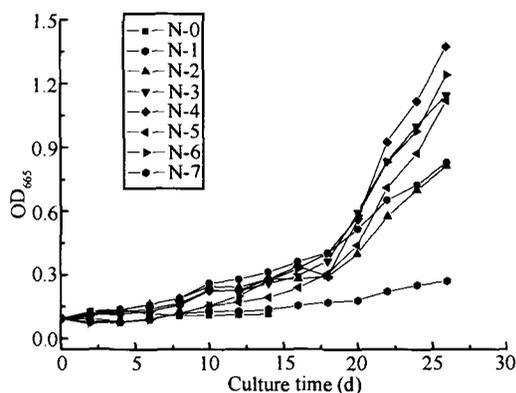


图2 不同 NO₃⁻-N 浓度对水华束丝藻生长的影响

Fig.2 Effect of different NO₃⁻-N concentration on the growth of *A. flos-aquae*

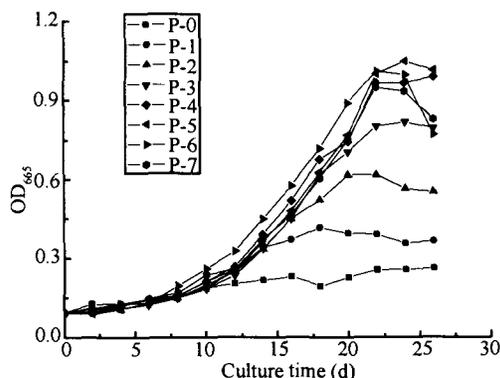


图3 不同 PO₄³⁻-P 浓度对水华束丝藻生长的影响

Fig.3 Effect of different PO₄³⁻-P concentration on the growth of *A. flos-aquae*

2.3 不同 N、P 浓度对水华束丝藻 Fv/Fm 的影响

较低的 N 浓度对水华束丝藻对数生长期的 Fv/Fm 可产生显著影响 ($p < 0.05$), N 浓度过高时也可对水华束丝藻的 Fv/Fm 产生一定的抑制作用,但当 N、P 浓度在 N:12.4—247.1mg/L、P:0.27—10.8mg/L 的范围内变化时,不会对水华束丝藻的 Fv/Fm 产生显著影响(图 4)。

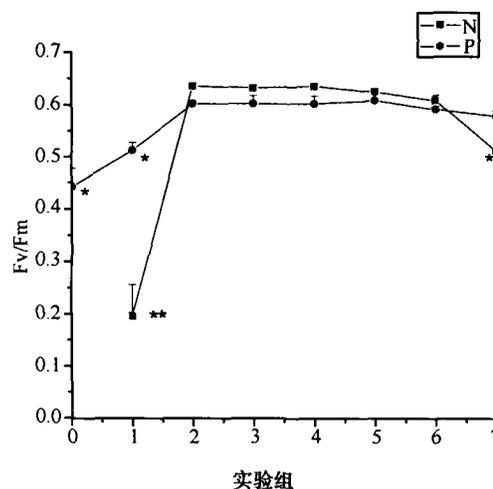


图4 不同 N、P 浓度对水华束丝藻 Fv/Fm 的影响

Fig.4 Effect of different N and P concentration on PS II efficiency in *A. flos-aquae*

2.4 N、P 对水华束丝藻 NR 活性的影响

水华束丝藻 NR 活性与培养液中硝酸盐氮的浓度并不是简单的相关关系。氮浓度很低时(6.2 mg/L),NR 仍表现出较高的活性(显著高于正常 BG11 培养物, $p < 0.05$);随后 NR 活性则有所降低,但在 $[NO_3^- -N] = 12.4—61.8$ mg/L 范围内会随培养液中硝酸盐氮浓度的升高而逐渐升高;当 $[NO_3^- -N] = 123.1$ mg/L 时, NR 活性达到一峰值 ($[NO_3^- -N] = 123.1$ mg/L, NR activity = 0.4314 $\mu\text{g}/\text{mg Pro}/\text{h}$),随后则随着培养液中氮浓度的继续增高而降低(图 5)。磷浓度的改变对水华束丝藻 NR 活性的影响无显著性差异。

2.5 N、P 对水华束丝藻 ACP/ALP 活性的影响

培养液中氮的浓度变化主要对水华束丝藻的 ACP 活性产生影响。在氮缺乏情况下,水华束丝藻胞内 ACP 活性升高,而 ALP 活性却无明显变化(图 6)。磷浓度的改变对水华束丝藻胞内 ALP 活性表现出一定的影响。较高和较低的磷浓度均可对水华束丝藻 ALP 活性产生抑制作用。当培养液中的磷完全缺乏时,ACP 活性则显著升高,而 $[PO_4^{3-} -P]$ 从 0.14—10.8 mg/L 变化时, ACP 活性无明显变化

($p < 0.05$, 图 7)

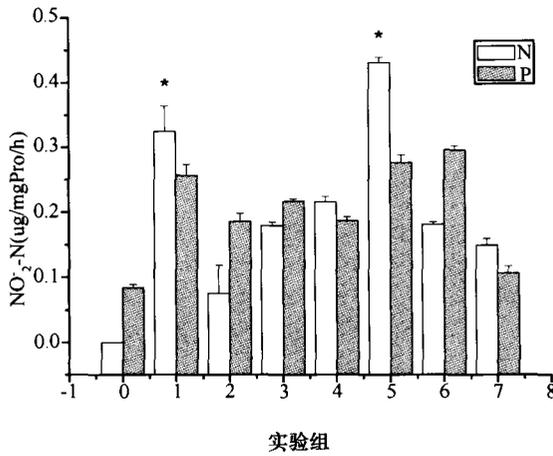


图 5 不同 N、P 浓度对水华束丝藻 NR 活性影响

Fig. 5 Response of NR activity in *A. flos-aquae* to different N and P concentration

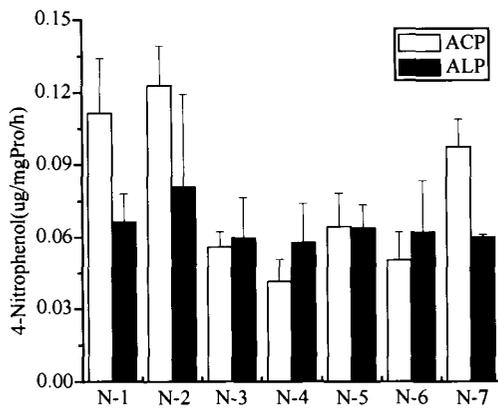


图 6 NO₃⁻-N 浓度对水华束丝藻 ACP/ALP 的影响

Fig. 6 Response of ACP and ALP activities in *A. flos-aquae* to different concentrations of NO₃⁻-N

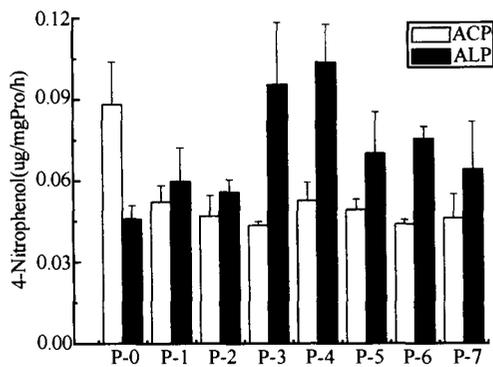


图 7 PO₄³⁻-P 浓度对水华束丝藻 ACP/ALP 的影响

Fig. 7 Response of ACP and ALP activities in *A. flos-aquae* to different concentrations of PO₄³⁻-P

3 讨论

水华束丝藻水华常发生于营养丰富的水体,我国最早报道的水华束丝藻水华出现在养殖鱼塘中^[3],由于鱼类养殖中投放饵料及鱼粪便等使水体中 N、P 等营养物质呈现超富状态,导致束丝藻水华出现,并危害鱼类健康和存活,给渔业养殖带来损失。在我们的工作中发现,大型湖泊水体如滇池等也由于富营养化的加剧而导致蓝藻水华包括束丝藻水华的频繁发生。本实验通过对滇池分离得到的一株水华束丝藻在不同氮磷浓度培养时的生长状况及 NR、ACP、ALP 和 Fv/Fm 的研究,初步揭示了束丝藻的一些生理生化特征。

在实验室培养条件下,水华束丝藻生长速度快,能适应广泛的氮磷浓度范围,在营养相对不足或缺乏时也可存活一定时间,各种与营养吸收和利用有关的酶也表现出不同程度的活性,甚至有所升高。这与水华束丝藻自身的特点有关:水华束丝藻具异型胞,有固氮能力,当环境中氮营养元素缺乏时,能启动自身的固氮机制,吸收利用环境中有限的氮元素作为自身的营养物质;且水华束丝藻具有伪空胞,能根据环境状况调节自身的浮力,具有很强的环境适应性。

叶绿素荧光在许多研究中被用作评价光合作用过程和不同环境因子对光合能力影响的指标^[14,15]。叶绿素 a 荧光的可变部分(Fv)与最大荧光(Fm)的比值可显示光系统 II (PS II)活性的大小,并与光合作用的净产率成正相关^[16],任何可影响 PS II 效能的环境胁迫均会使 Fv/Fm 的值降低。本实验结果表明,N、P 浓度只有在极低或完全缺乏时才显著抑制水华束丝藻的 Fv/Fm,而 N、P 浓度分别在 12.4—247.1 mg/L 和 0.27—10.8 mg/L 的范围内变化时,不会对水华束丝藻的 Fv/Fm 产生显著影响。这表明作为藻类生长所必需的 N、P 营养元素,其浓度在一定范围内的变化,不致影响束丝藻的光合作用效率,而本组在对我国富营养化湖泊滇池近几年和太湖 2004 年的监测中发现,这一浓度范围与富营养化的自然水体中 N、P 浓度变化是相符的。本实验中,氮的完全缺乏或浓度很低([NO₃⁻-N] = 0 或 6.2 mg/L)时,可对水华束丝藻 PS II 活性产生明显抑制作用,这也可能是由于该实验藻株经长期的实验室有氮条件培养,导致异型胞退化,固氮能力下降所致。

硝酸还原酶(NR)是植物氮代谢中一个重要的调节酶和限速酶,是属于一种钼黄蛋白,它是一种

底物诱导酶,当外界环境中存在硝酸盐时会受诱导而产生,并在将硝酸盐转化成亚硝酸盐的过程中发挥重要作用^[10]。藻类细胞中,都广泛存在着 NR。大量的研究表明,藻类的 NR 活性与胞内外的硝酸盐和亚硝酸盐浓度息息相关。Dortch 等在中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*) 中发现,在外界硝酸盐耗尽的过程中或耗尽后,胞内储备硝酸盐的利用使藻类在外界极低的硝酸盐水平下仍维持很高的 NR 活性^[17]。本实验结果表明,水华束丝藻 NR 的活性随氮浓度的增高呈现出高-低-高-低的变化趋势,即在低氮浓度下,水华束丝藻仍呈现出较高的酶活性,这可能是因为藻细胞内储存氮元素的诱导引起酶活性的增高,另外与束丝藻的固氮特性可能也有关系。因为在低氮条件下,水华束丝藻可能会启动自身的固氮机制,尽可能的吸收利用环境中有限的氮源。邱昌恩等人曾发现在一种有望用于净水的绿球藻中,随培养液中氮浓度的增高 NR 活性被诱导增高^[18]。本实验结果也表明在一定浓度范围内,水华束丝藻的 NR 活性随培养液中 NO_3^- -N 浓度的增高也逐渐升高;但当培养液中的 N 浓度高于 123.5 mg/L(正常 BG11 培养基中 N 浓度的一半)时, NR 活性将不再升高,并出现下降趋势,这说明过高的氮浓度并不能被水华束丝藻所吸收利用,反而对其生长产生抑制作用。

磷是各类植物生长发育所必需的营养元素。许多藻类对磷浓度的变化非常敏感,它们可以在培养条件下,利用各种形式的磷作为生长发育之需,包括无机和有机磷,甚至矿石磷,如沙角衣藻、斜生栅藻等^[19]。碱性磷酸酶(ALP)同植物对磷的利用有关^[20],对许多藻类来讲,ALP 是诱导酶^[21],容易受到环境因子的影响。酸性磷酸酶(ACP)是一类金属水解酶,能催化磷酸酯或酸酐的水解而生成无机磷酸根,同样与磷的利用有关^[22]。本实验结果表明,培养液中 N 浓度的变化对水华束丝藻的胞内 ACP 影响较 ALP 明显。N 缺乏时,ACP 活性增高,随后逐渐降低并保持稳定,这说明在低氮条件下水华束丝藻对磷的需求和利用也有所增加。而磷浓度的改变则对束丝藻的胞内 ALP 影响显著,且与 NR 的变化趋势相似,在低磷范围内随培养液中磷浓度的升高,ALP 的活性逐渐升高,这也许与 ALP 酶的底物诱导性质有关,当磷浓度增加到一定程度后,ALP 活性则不再升高,反而逐渐下降,这与由藻的生长状况所反映的磷浓度的影响作用是一致的,过高的磷浓度不仅不利于藻的

生长,反而对其生长产生一定的抑制作用。

参考文献:

- [1] Shen P P, Shi Q, Hua Z C, Kong F X, *et al.* Analysis of microcystins in cyanobacteria blooms and surface water samplis from Meiliang Bay, Taihu Lake, China [J]. *Environ. Int.*, 2003, **29**: 641—647
- [2] Shen Y W, Liu Y D, Wu G Q, *et al.* Mechanical removal of heavy cyanobacterial bloom in the hyper-eutrophic Lake Dianchi [J]. *Acta Hydrobiologica Sinca*, 2004, **28**(2): 131—136 [沈银武,刘永定,吴国樵,等. 富营养湖泊滇池水华蓝藻的机械清除. 水生生物学报, 2004, **28**(2): 131—136]
- [3] Huang Z M. Prevention and cure of *Aphanizomenon* sp. Bloom [J]. *Inland Aquiculture*, 1997, **11**(1): 24 [黄章梅. 束丝藻水华防治. 内陆水产, 1997, **11**(1): 24]
- [4] Adelman W J, Fohlmeister J F, Sasner J J, Ikawa M. Sodium channel blocked by aphantoxin obtained from the blue-green alga, *Aphanizomenon flos-aquae* [J]. *Toxicon*, 1981, **20**(2): 513—516
- [5] Alam M, Ikawa M, Sasner J J, Sawyer P J. Purification of *Aphanizomenon flos-aquae* toxin and its chemical and physilurgical properties [J]. *Toxicon*, 1972, **11**: 65—72
- [6] Liu Y M, Liu Y D, Li D H, *et al.* Bioassay for the toxicity of *Aphanizomenon flos-aquae* bloom from Lake Dianchi [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, **28**(2): 216—218 [刘永梅,刘永定,李敦海,等. 滇池束丝藻水华毒性生物检测. 水生生物学报, 2004, **28**(2): 216—218]
- [7] Liu Y M, Chen W, Li D H, *et al.* First report of aphantoxins in China-waterblooms of toxigenic *Aphanizomenon flos-aquae* in Lake Dianchi [J]. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 2006, **65**(1): 84—92
- [8] Takano K, Hino S. Effect of temperature and soluble reactive phosphorus on abundance of *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanophyceae) [J]. *Phycol. Res.*, 2002, **48**: 9—13
- [9] Schofield O, Evens T J, Millie D F. Photosystem II quantum yields and xanthophylls-cycle pigments of the macroalga *Sargassum natans* (phaeophyceae): responses under natural sunlight [J]. *J. Phycol.*, 1998, **34**: 104—112
- [10] Chapman D J, Harrison P J. Nitrogen metabolism and measurement of nitrate reductase activity [A]. In: Lobban C S, Chapman D J, Kremer B P (Eds.), *Experimental phycology: a laboratory manual* [C]. London: Cambridge Univirsity Press. 1988, 196—200
- [11] Li H S, Sun Q, Zhao S J, Zhang W H. Principle and technique on plant physiological biochemical experiment [M]. Beijing: Higher Education Press. 2000, 125—128 [李合生,孙群,赵世杰,章文华. 植物生理生化实验原理和技术. 北京:高等教育出版社. 2000, 125—128]
- [12] Sun H G, Zhang F S. Effect of phosphorus deficiency on activity of acid phosphatase exuded by wheat roots [J]. *Applied Ecocol.*, 2002, **13**(3): 379—381 [孙海国,张福锁. 缺磷条件下的小麦根系酸性磷酸酶活性研究. 应用生态学报, 2002, **13**(3): 379—381]
- [13] Xu G H, Zheng H Y, *et al.* Manual on analysis of edaphic mi-

- croorganism [M]. Chinese Agricultural Press. 1986, 278-279 [许光辉, 郑洪元, 等. 土壤微生物分析方法手册. 中国农业出版社. 1986, 278—279]
- [14] Peterson R B. Effects of O₂ and CO₂ concentration on Quantum yields of photosystems I and II in tobacco leaf tissue [J]. *Plant Physiol.*, 1991, **97**: 1388—1394
- [15] Vonshak A, Torzillo G, Tomasseli L. Use of chlorophyll fluorescence to estimate the effect of photoinhibition in outdoor cultures of *Spirulina latensis* [J]. *J Appl. Phycol.*, 1994, **6**: 31—34
- [16] Krause G H, Weis E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The Basics [J]. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1991, **42**: 313—349
- [17] Dortch Q, Ahmed S I, Packard T T. Nitrate reductase and glutamate dehydrogenase activities in *Skeletonema costatum* as measures of nitrogen assimilation rates [J]. *Plankton Res.*, 1979, **1**: 169—186
- [18] Qiu C E, Kuang Q J, Liu G X, Hu Z Y. Influence of different nitrogen concentrations on the growth and physiological characteristics of *Chlorococcum* sp. [J]. *China Environ. Sci.*, 2005, **25**(4): 408—411 [邱昌恩, 况其军, 刘国祥, 胡征宇. 不同氮浓度对绿球藻生长及生理特性的影响. 中国环境科学, 2005, **25**(4): 408—411]
- [19] Qing R W, Tang D S, Fu H L. Three algae availability of indissoluble phosphate rocks [J]. *J Sichuan University (Natural Science Edition)*, 2002, **39**(1): 124—126 [卿人韦, 唐东山, 傅华龙. 3种藻类植物对矿石磷转化利用程度的研究. 四川大学学报(自然科学版), 2002, **39**(1): 124—126]
- [20] Gao G, Gao X Y, Qin B Q, et al. Experimental study on the PO₄³⁻-P threshold of the alkaline phosphatase activity in Taihu Lake [J]. *J lake Sci.*, 2000, **12**(4): 353—358 [高光, 高锡云, 秦伯强, 等. 太湖水体中碱性磷酸酶的作用阈值. 湖泊科学, 2000, **12**(4): 353—358]
- [21] Jasson M, Olsson H, Pettersson K. Phosphatase: origin, characteristics and function in lakes [J]. *Hydrobiologia*, 1988, **170**: 157—175
- [22] Cashikara A G, Kumaresan R, Rao N M. Biochemical characterization and subcellular localization of the red kidney bean purple acid phosphatase [J]. *Plant physiol*, 1997, **114**: 907—915

EFFECTS OF NITRATE AND PHOSPHORUS ON GROWTH AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *APHANIZOMENON FLOS-AQUAE* FROM DIANCHI

LIU Yong-Mei^{1,2}, LIU Yong-Ding¹, LI Dun-Hai¹ and SHEN Yin-Wu¹

(1. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072;

2. College of pharmacy Wuhan University, Wuhan 430072)

Abstract: *Aphanizomenon flos-aquae* (*A. flos-aquae*) isolated from eutrophic Lake Dianchi was cultured in BG11 medium, and it was maintained at (25 ± 1) °C (with an illumination of 20 μE/m²·s, under a light/dark cycle of 16:8). The growth cycle of *A. flos-aquae* was approximately 28d and the growth curve was fit well with the typical “S” model. Concentrations of NO₃⁻-N and PO₄³⁻-P may affect the growth of *A. flos-aquae* with better growth under higher concentration of N and P, but excessive N and P may restrain the growth of *A. flos-aquae*. Fv/Fm of *A. flos-aquae* can only affected by the absence or unusually low contents of N and P. Nitrate reductase, acid phosphatase under low concentrations of N and P were significantly higher than that of the control (cultured in BG11 medium, *p* < 0.05). Activities of nitrate reductase and acid/alkaline phosphatase were not linear with the changes of N and P concentration. These results indicated that *A. flos-aquae* could adapt to variant circumstances with different nutritional levels due to their physiological and biochemical strategies.

Key words: Cyanobacteria bloom; *A. flos-aquae*; Nitrate; Phosphorus; Nitrate reductase; Acid/Alkaline phosphatase; Photosynthetic efficiency