

武汉东湖光合色素与叶绿素 a 代谢产物的 HPLC 研究

刘 红¹ 谢 平¹ 周 洁² 刘学军¹ 唐汇娟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;

湖泊生态系统东湖生态站; 武汉 430072;

2. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070)

摘要: 用高效液相色谱(HPLC)法研究了武汉东湖周年及围隔实验水柱颗粒物色素的组成及变化。共检测到约 20 种色素, 类胡萝卜素含量较高的有硅藻的标志色素岩藻黄素, 隐藻的异黄素, 蓝、绿藻的黄体素、玉米黄素及胡萝卜素。东湖叶绿素 a 的代谢产物主要为脱植基叶绿素 a (全湖年均约占叶绿素 a 的 5%), 而非脱镁叶绿素 a 或脱镁叶绿酸 a。围隔实验结果表明: 叶绿素 a 与总浮游植物($r = 0.84$), 叶绿素 b 与绿藻($r = 0.77$), 岩藻黄素与硅藻($r = 0.68$), 异黄素与隐藻生物量($r = 0.83$)之间具显著的相关性。表明用 HPLC 分析色素快速、简捷, 是研究浮游植物群落组成及动态变化的有力辅助工具。

关键词: 高效液相色谱法; 标志色素; 叶绿素 a 代谢产物; 类胡萝卜素

中图分类号: Q179.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2003)01-0001-006

浮游植物的定量研究通常用 Utermöhl 沉降技术处理原样, 然后用倒置显微镜观察进行细胞计数和体积测量。但这种方法需要具备分类技术的专业人员, 耗费大量的时间, 经常存在人为误差, 并且不能反映浮游植物的生理状况^[1]。常规分析中, 叶绿素 a 常作为浮游植物生物量的一个参数, 但它在自然水体藻类细胞中的含量有较大的波动^[2], 且不能就浮游植物群落组成得出任何结论^[1,3]。藻类的色素组成十分复杂, 不同的色素标志着不同的进化方向, 为分门的主要依据^[4]。某些色素在分类上是独一无二的, 可用作标志色素来监测海洋或淡水生态系统中浮游植物群落组成或用来研究藻类水华动态^[5~7], 叶绿素 a 的代谢产物则常用来描述浮游动物捕食^[8~13]。

东湖(30°33'N, 114°23'E)位于武昌东北郊, 是江汉湖群中的一个中型浅水湖泊, 由郭郑湖、水果湖、汤林湖、后湖等湖区组成, 总面积为 31.53 km², 具有供水、水上运动、商业性渔业和旅游观光等多种用途, 是武汉市重要的水源和养殖基地^[14]。本文旨在用 HPLC 监测东湖水柱颗粒物色素的组成与周年动态; 利用围隔实验将 HPLC 色素分析结果和显微镜

细胞计数结果进行比较, 以评价色素 HPLC 分析方法用于浮游植物定量的可行性。

1 材料与方法

1.1 试验地点 在东湖营养水平不同的湖区设置了四个观测点: I、II、III、IV 站(图 1)。I 站位于水

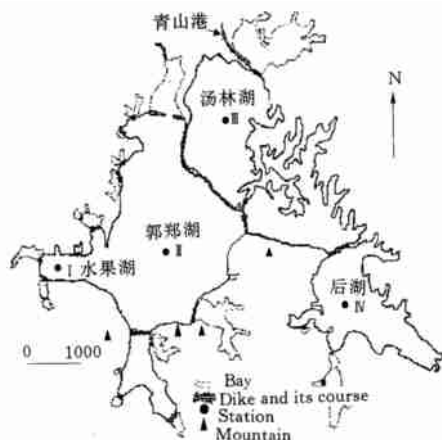


图 1 东湖各采样点分布图

Fig. 1 Location of the sampling sites of Lake Donghu

果湖区, 由于有大量生活污水排入, 营养水平极高; II 站位于东湖主体的郭郑湖区, 湖面宽阔, 但由于沿

收稿日期: 2001-12-28; 修订日期: 2002-04-16

基金项目: 国家自然科学基金(3970146)资助

作者简介: 刘红(1974—), 女, 河北省冀州人; 博士; 从事淡水浮游生物生态方面的研究

通讯作者: 谢平, Email: xieping@ihb.ac.cn

岸有许多工厂、学校等单位的生活污水排入, 营养物浓度也很高; II站位于汤林湖区, 沿岸人口密度较低, 且有大堤和东湖其他部分隔开, 水质较清; IV站位于后湖中心, 该湖区也有长堤与其他湖区相隔, 周围基本为农业环境, 受人为干扰较少, 水草较多, 湖水清澈。自1998年8月到1999年7月, 每月中旬在各采样站采表层(距水气和水泥界面各0.5m)混合水样进行色素分析。

1.2 围隔试验 从1999年4月29日到6月25日在东湖生态系统实验站趸船旁进行围隔实验。8个实验围隔(每个12.5m³, 2.5m×2.5m×2m)由钢筋组成框架, 外套以聚乙烯膜与东湖主体湖水隔开, 均朝上开口, 上端高出水面约80cm。底部塑料膜平铺于泥表, 用泵抽湖水到围隔中, 并人工加10cm厚底泥, 静置一周后放鱼。

实验用鱼为鲢(*Hypophthalmichthys molitrix* Cavier et valenciener), 鱼种来自本所养殖场, 规格为1冬龄, 平均体长19.05cm, 平均全长23.16cm, 平均体重102.70g。实验共分4组, 每组设一个平行, 放鱼前及放鱼后每5—7d, 采各围隔及外围湖水表底层的混合水样进行色素分析, 并记录水温、透明度。与此同时, 进行浮游植物的定性与定量分析。

1.3 藻种及其来源 为辅助色素的定性研究, 对7种淡水纯培养藻: 栅藻(*Scenedesmus*)、针杆藻(*Syne-dra*)、菱形藻(*Nitzschia*)、多甲藻(*Peridinium*)、鱼腥藻(*Anabaena*)、颤藻(*Oscillatoria*)、裸藻(*Euglena*)的色素组成进行分析。藻种来自本所淡水藻种库。

1.4 样品的 HPLC 分析 抽滤一定体积的水样于GF/C滤膜上, 用锡箔纸包好, 置冰箱内冰冻保存, 一周内进行分析。测定前将滤膜用匀浆器磨碎加90%

丙酮5mL, 摇匀, 以3000r/min离心3—5min后, 取1mL上清液加1mol/L的醋酸铵0.3mL用于HPLC色素分析。所有操作尽量迅速、避光并保持低温。

所用HPLC系统为日本岛津公司LC-10A型高效液相色谱仪, 包括两台LG10AD型梯度输送泵, 一个SIL-10A型自动进样器, 一个SPD-10AV型紫外分光检测器($\lambda=436\text{nm}$)和一个RF-10AXL型荧光检测器($\lambda_{\text{ex}}=440\text{nm}$; $\lambda_{\text{em}}=660\text{nm}$), 分析柱为反相的CLC-ODS型(5 μm , C₁₈, 6mm×150mm), 数据在CLASS-10A液相色谱工作站作定性和定量分析。洗脱方法采用二元高压梯度洗脱, A洗脱液为70%甲醇+30%1mol/L醋酸铵; B洗脱液为70%甲醇+30%乙酸乙酯(体积比), 流速1mL/min。洗脱程序: 前7min内B洗脱液由20%梯度上升到60%, 停留5min, 然后在8min内梯度上升到100%, 保持此浓度到洗脱完毕。

1.5 色素的定性和定量 色素的定性与色素标准品(美国Sigma公司产品)的保留时间比较; 与已知色素组成的纯培养藻种谱图的保留时间比较; 叶绿素及其代谢产物用荧光检测器检测, 根据其相对保留时间来定位。色素的定量参照Matoura和Llewellyn^[15]的方法。

本研究所用的HPLC法能有效分离并确定近20种光合色素及叶绿素a代谢产物。图2为7种纯培养藻的HPLC谱图, 其峰号及色素名称见表1。可以看出, 各门藻类除都含叶绿素a外, 还含各自特殊的色素: 绿藻及裸藻均含叶绿素b, 绿藻还含特殊的黄体素、新黄素和紫黄素, 裸藻则含硅甲藻黄素; 蓝藻除含特有的海胆酮和蓝藻叶黄素外, 还含玉米黄素及角黄素; 硅藻主要含叶绿素c、岩藻黄素及硅甲藻黄素; 甲藻主要含叶绿素c、多甲藻黄素及硅甲藻黄素。

表 1 实验检出的色素名称及其特殊消光系数
Tab. 1 The name of pigments and their special extinction coefficients

峰号 Peak No.	色素名称 Pigments	消光系数 E ₄₄₀ ^{1%}	峰号 Peak No.	色素名称 Pigments	消光系数 E ₄₄₀ ^{1%}
1	脱植基叶绿素 a(Chlorophyllide a)	687	11	硅藻黄素(Dioxanthin)	1634
2	叶绿素 c(Chlorophyll c)	3460	12	黄体素与玉米黄素 (Lutein & Zeaxanthin)	2393
3	脱镁叶绿酸 a(Pheophorbide a)	687	13	角黄素(Cantherxanthin)	2000
4	多甲藻黄素(Peridinin)	1126	14	叶绿素 b(Chlorophyllb)	853
5	岩藻黄素(Fucoxanthin)	1016	15	叶绿素 a' (Chlorophyll a')	687
6	新黄素(Neoxanthin)	2374	16	叶绿素 a(Chlorophyll a)	687
7	紫黄素(Violaxanthin)	2550	17	海胆酮(Echineone)	1881
8	蓝藻叶黄素(Myxoxanthin)	1253	18	脱镁叶绿素 b(Pheophytin b)	836
9	硅甲藻黄素(Diadinoxanthin)	2250	19	脱镁叶绿素 a(Pheophytin a)	713
10	异黄素(Alloxanthin)	2000	20	胡萝卜素(Carotene)	2209

注: 表 1 中的特殊消光系数引自文献[15]。Special extinction coefficients in Table 1 are from [15]。

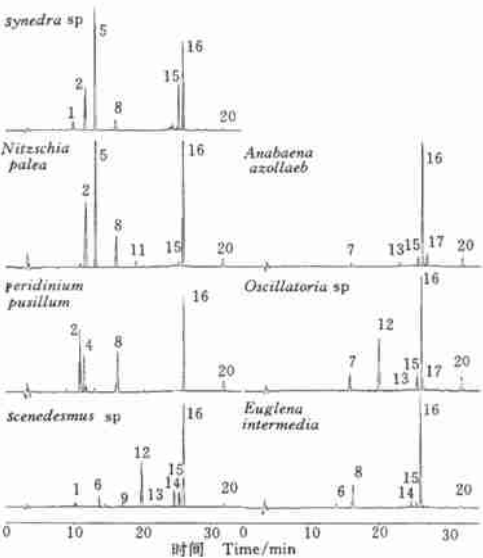


图 2 7 种单细胞淡水纯培养藻种的 HPLC 色谱图
(峰号及色素名称见表 1)

Fig. 2 HPLC traces of pigment separation of unicelal
cultures of 7 reference microalgae

2 结果

2.1 色素组成

在水柱颗粒物 HPLC 谱图中(图 3), 除含上述纯

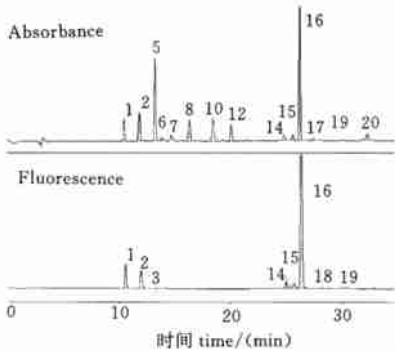


图 3 东湖水柱样品的 HPLC 可见光和
荧光检测图(峰号及色素名称见表 1)

Fig. 3 Separation of pigments by HPLC
from water column sample of Lake Donghu with
absorbance and fluorescence

培养藻类所含色素外, 还含有脱植基叶绿素 a、叶绿素 a', 脱镁叶绿素 a 和脱镁叶绿素 a 等叶绿素 a 代谢产物。黄体素与玉米黄素出峰重叠(分别为绿藻和蓝藻含量较多); α、β 几种胡萝卜素也不能分开, 统称胡萝卜素; 峰号为 10 的色素和异黄素的析出顺序和相对保留时间相近, 而且后来围隔水样的显微镜观察结果进一步确定了 10 号峰为隐藻的特征色素—异黄素, 这种色素在东湖和围隔样品中含量均比较高。

2.2 东湖水柱颗粒物主要色素现状与周年动态

叶绿素 a、b、c 及叶绿素 a 代谢产物含量在东湖 I 站均最高, 其次为东湖 II 站, II 站和 IV 站水平相近。东湖叶绿素 a 的代谢产物主要为脱植基叶绿素 a, 全湖年均 2.45μg/L, 约占叶绿素 a 的 5%; 脱镁叶绿素 a 含量很低, 全湖年均仅 0.39μg/L, 占叶绿素 a 的百分比为 0.9%; 脱镁叶绿素酸 a 含量最低, 在很多样品检测不到, 全湖年均仅 0.13μg/L, 占叶绿素 a 的 0.3%。叶绿素 a' 有时含量比较高, 可能缘于色素提取过程中人为产生(表 2)。

从图 4 可以看出, 研究期间, 叶绿素 a 含量在东湖不同营养水平的湖区有明显差异, 具明显的季节性。总体看来, I、II 站叶绿素 a 含量较高, 有明显的秋末(11 月)和春季(4 月)高峰, 且全年变幅较大; II 站变幅相对小得多, 有春、秋季高峰; IV 站叶绿素 a 呈夏、秋季高峰, 尤以 1998 年 8—11 月含量相对较高, 使得全年变幅也相对较大。

东湖类胡萝卜素含量较高的几种依次为: 岩藻黄素、异黄素、黄体素与玉米黄素、胡萝卜素。研究期间, 东湖 I 站 2、4 月、II 站 4 月、III 站 4、10、11 月硅藻的标志色素岩藻黄素的含量较高(图 5)。可以说 I、II 站硅藻呈春季高峰, II 站则有春、秋季两个高峰。IV 站岩藻黄素也是 11 月最高, 1999 年 3、6 月各有一个弱高峰。

I、II 站隐藻的特征叶黄素异黄素有明显的秋

表 2 东湖各站叶绿素及叶绿素 a 代谢产物含量均值(单位: μg/L)

Tab. 2 Average concentration of Chlorophylls and Chl a derivatives of Lake Donghu

	I 站	II 站	III 站	IV 站	全湖
叶绿素 a (Chl a)	94.92	61.78	10.20	11.85	44.69
叶绿素 b (Chl b)	2.28	1.22	0.29	0.35	1.04
叶绿素 c (Chl c)	3.34	2.19	0.43	0.24	1.55
脱植基叶绿素 a (Chlorophyllide a)	5.80	2.90	0.70	0.42	2.45
脱镁叶绿素酸 a (Pheophorbide a)	0.20	0.18	0.06	0.09	0.13
脱镁叶绿素 a (Pheophortin a)	0.76	0.62	0.07	0.09	0.39
叶绿素 a' (Chl a')	4.27	2.68	0.39	0.38	1.93

末高峰(图 6),说明秋末浮游植物高峰以隐藻为主。值得注意的是,Ⅳ站 8—10 月的蓝藻叶黄素含量很高,是年平均值的几倍,甚至高出Ⅰ站很多,海胆酮也有类似的趋势,11 月份多甲藻黄素含量也较高(图 7)。

2.3 围隔实验水柱颗粒物的色素分析

各围隔及外围湖水中的藻类都以蓝藻的隐球藻(*Aphanocapsa*)、平裂藻(*Merismopedia*),绿藻的衣藻(*Chlamydomonas*)、卵囊藻(*Oocystis*)、小球藻(*Chlorella*)、蹄形藻(*Kirchneriella*),硅藻的小环藻(*Cyclotella*)、针杆藻(*Synedra*)以及隐藻(*Cryptomonas*)、蓝隐藻(*Chroomonas*)等小型种类为优势种群。整个实验期间,各围隔及外围湖水藻类生物量都以隐藻、绿藻和蓝藻占优势,硅藻少量,裸藻和甲藻仅偶尔出现。在色素方面,隐藻、绿藻、硅藻的变化趋势可分别由异黄素、叶绿素 b、岩藻黄素表现出来。

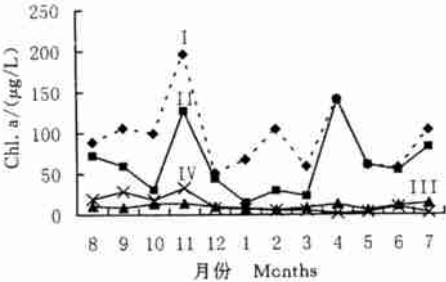


图 4 东湖 4 个站叶绿素 a 含量的周年动态
Fig. 4 Yearly fluctuation of Chl a content in Lake Donghu

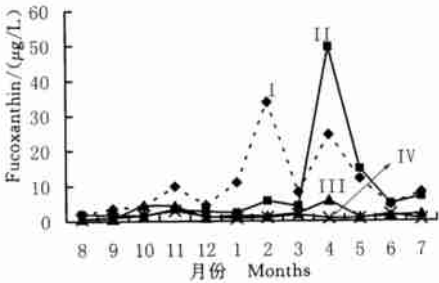


图 5 东湖 4 个站岩藻黄素含量的周年动态
Fig. 5 Yearly fluctuation of fucoxanthin content in Lake Donghu

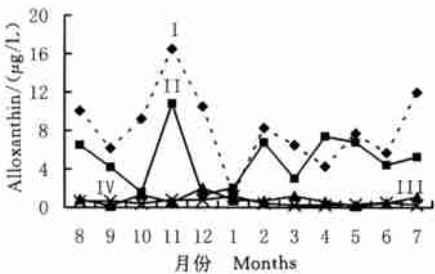


图 6 东湖 4 个站异黄素含量的周年动态
Fig. 6 Yearly fluctuation of alloxanthin content in Lake Donghu

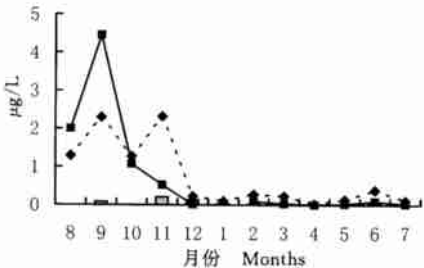


图 7 东湖Ⅳ站蓝藻叶黄素、海胆酮与多甲藻黄素含量的周年动态
Fig. 7 Yearly fluctuation of myxoxanthin, echinenone and peridinin contents at Station IV in Lake Donghu
■ Echinenone; ◆ Myxoxanthin; Peridinin

由图 8 可以看出藻类标志色素与相应的藻类生物量之间结果一致。叶绿素 a 和总浮游植物生物量,叶绿素 b 和绿藻,异黄素和隐藻,岩藻黄素和硅藻生物量之间显著相关($P < 0.01$),相关系数分别为 0.84、0.77、0.83 和 0.68。但蓝藻和其标志色素之间并无显著的相关性。

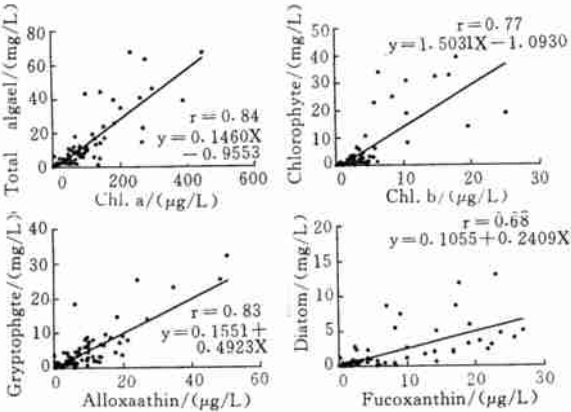


图 8 各围隔及湖水中标志色素与相应藻类生物量(mg/L)之间的相关关系
Fig. 8 Relationship between the specific pigment content and the biomass of the corresponding algal group in the enclosures and the surrounding lake water

3 讨论

3.1 标志色素与相应的藻类生物量之间的关系

Schmid 等研究了 10 个湖泊的 100 多个样品,指出浮游植物可以通过定量光合辅助色素来精确描述,每一湖泊的优势浮游植物生物量和相应的标志色素之间相关系数高达 0.90,甚至 0.96。Descy 等研究河流的浮游植物生物量与标志色素的关系时,也得到叶绿素 a 与总生物量($R^2 = 0.82$),岩藻黄素与硅藻($R^2 = 0.74$),黄体素与绿藻($R^2 = 0.87$)之间的显著相关性,但是隐藻和蓝藻与其标志色素无相关性,他们认为这是由于这两种藻不是优势种群,生物

量很低, 所以定量上有一定的误差而造成。Wilhelm 等^[6]和 Yacobi 等^[7]也得到了显微镜计数与色素分析一致的结果。

本文围隔实验的显微镜计数结果与相应藻类色素含量相关显著 ($P < 0.01$), 和上述结论基本一致。但在个别围隔或外围湖水中, 藻类生物量与其标志色素之间有一定差异(个别围隔或外围湖水中相关不显著, 蓝藻与其标志色素之间也无相关性)。可能有如下原因: (1) 在测定时, 有些硅藻可能已经死掉, 但是显微镜计数时, 不可能分辨出来, 以至仍计数在内, 从生理角度来讲, HPLC 法可能更精确; (2) 由于东湖藻类小型化, 优势种群都是小型藻类, 给定量带来一定的困难; (3) 蓝藻所含叶黄素种类最丰富, 各目、科、属间会有不同, 而且标志色素含量很少, 给 HPLC 分析带来了困难, 因为色谱峰越小, 越易造成误差^[5]; (4) 在未放鱼的围隔中最后几次采样时藻类生物量都很小, 使藻类和色素定量都可能产生误差。

在本研究中, 黄体素与玉米黄素未能有效分离, 所以不能将这两种含量较多的色素作为标志来定量绿藻和蓝藻; 蓝藻定量没有一个合适的标志物; 这一方法不能检测裸藻, 因为裸藻不含任一其他藻不含的特征色素。

围隔实验结果表明, 湖水中以蓝藻、硅藻、绿藻、隐藻的小型种类为优势种群, 标志色素含量与相应藻类生物量之间具有显著相关关系。而东湖周年水柱颗粒物的类胡萝卜素中岩藻黄素、异黄素、黄体素与玉米黄素、胡萝卜素含量较高。以标志色素为依据可以推测本研究期间, 东湖 I、II 站的藻类均为绿藻、硅藻、蓝藻、隐藻占优势, 且硅藻、隐藻生物量较大, 隐藻形成秋末高峰, 而硅藻形成春季高峰; III、IV 站的硅藻则有春、秋季两个高峰, II 站一年中硅藻生物量相对较高。而 IV 站 1998 年 8—10 月蓝藻叶黄素和海胆酮的量很高, 可能当时曾有过蓝藻的大发生期, 而且甲藻也曾大量出现过。

3.2 叶绿素 a 代谢产物

脱植基叶绿素 a 是母体叶绿素 a 在叶绿素酶 (Chlorophyllase) 的作用下脱去植基 (Phytol) 的结果, 脱镁叶绿素 a 是母体叶绿素 a 在动物消化系统的酸性环境或高强辐射等条件下失去 Mg 原子的结果; 脱镁叶绿酸 a 是母体叶绿素 a 失去 Mg 原子和植基的结果^[4]。本文全湖采样结果表明, 脱植基叶绿素 a 是东湖叶绿素 a 的主要代谢产物, 其次才是脱镁叶绿素 a, 脱镁叶绿酸 a 的含量甚微, 在很多样品中检测不到。这和 Yacobi 等的结果相符, 他们检测到

脱植基叶绿素 a 占叶绿素 a 的 1—9%, 其他代谢产物含量很低。Rouzić 等用 45µm 的浮游植物网采样, 发现最高的脱植基叶绿素 a 与叶绿素 a 之比有时高达 1, 认为可能与春季缺乏营养而衰老的藻大量积累有关。而本研究结果表明叶绿素 a 代谢产物的含量较低, 脱植基叶绿素 a 与叶绿素 a 之比最大仅为 0.22, 且周年动态并不那么明显, 这可能是因采样方法不同, 或更大程度上是因为东湖是一浅水富营养湖泊, 氮、磷含量均很高, 不会成为营养限制因子有关。

海洋中浮游动物将叶绿素 a 转化为脱镁叶绿酸的效率可高达近 100%^[11], 所以脱镁叶绿酸 a 是海水中叶绿素 a 的主要代谢产物^[12]。在本研究中, 东湖水柱脱镁叶绿酸 a 和脱镁叶绿素 a 的含量都较少, 围隔中虽然这两种色素比例稍有升高, 但这主要是由于叶绿素 a 含量的大幅下降造成的, 其绝对含量并不高。可能有几个原因: (1) 相比之下, 淡水中多枝角类, 它们产生非固态, 流体状的粪便, 易于稀释于水中, 增加降解机会; (2) 东湖所放养的滤食性鱼类密度很大, 鱼类对浮游动物的摄食使粪便颗粒变大, 加上东湖很浅, 鱼粪易于沉降, 导致水体中来自浮游动物摄食产生的叶绿素 a 降解产物含量很低; (3) 东湖浮游动物小型化, 原生动物比重大^[2], 据报道原生动物摄食并不产生脱镁叶绿酸 a^[13]; (4) 东湖周年动物捕食压力都很大, 色素经由几次动物消化道后基本全部降解为其他无色产物^[16]。

参考文献:

- [1] Millie D F, Paerl H W, Hurley J P. Microalgal pigment assessments using High Performance Liquid Chromatography: A synopsis of organismal and ecological applications [J]. *Can. J. Fish Aquat Sci*, 1993, **50**: 2513—2527
- [2] Shi P, Lin W L, Wang S H, Liu J K. Plankton and seston structure in a shallow, eutrophic subtropic Chinese lake [J]. *Arch. Hydrobiol*, 1993, **129**: 199—220
- [3] Schmid H, Bauer F, Stieh H B. Determination of algal biomass with HPLC pigment analysis from lakes of different trophic state in comparison to microscopically measured biomass [J]. *J. Plankton Res*, 1998, **20**(9): 1651—1661
- [4] Rowan K S. Photosynthetic Pigments of Algae [M]. London, Cambridge University Press, 1989, 334
- [5] Descy J P, Metens A. Biomass pigment relationships in potamoplankton [J]. *J. Plankton Res*, 1996, **18**(9): 1557—1566
- [6] Wilhelm Ch, Rudolf I, Renner W. A quantitative method based on HPLC aided pigment analysis to monitor structure and dynamics of the phytoplankton assemblage: a study from Lake Meerfelder Maar (Eifel, Germany) [J]. *Archiv für Hydrobiologia*, 1991, **123**: 21—35

- [7] Yaobi Y Z, Pollinger U, Gonen, Y, *et al* . HPLC analysis of phytoplankton pigments from Lake Kinneret with special reference to the bloom forming dinoflagellate *Peridinium gatense* and chlorophyll degradation products [J]. *J. Plankton Res*, 1996, **18** (10): 1781—1796
- [8] Rouzic L B, Bertru G, Brient L. HPLC analysis of chlorophyll a breakdown products to interpret microalgae dynamic in a shallow bay [J]. *Hydrobiologia*, 1995, **302** : 71—80
- [9] Takamura N, Li J L, Yang H Q *et al* . A novel approach to evaluate feeding by mixed cyprinid species in a Chinese integrated fish culture pond using measurements of chlorophyll derivatives and photosynthesis in gut contents [J]. *Can J. Fish Aquat Sci*, 1993, **50**: 946—952
- [10] Carpenter S R, Bergquist A M. Experimental tests of grazing indicators based on chlorophyll a degradation products [J]. *Arch Hydrobiol*, 1985, **102**(3): 303—317
- [11] Shuman F R, Lorenzen C J. Quantitative degradation of chlorophyll by a marine herbivore [J]. *Limnol Oceanogr*, 1975, **20**: 580—586
- [12] Vemet M, Lorenzen C J. The relative abundance of pheophorbide a and pheophytin a in temperate marine waters [J]. *Limnol Oceanogr*, 1987, **32**(2): 352—358
- [13] Klein B, Gieskes W W C, Kraay G W. Digestion of chlorophylls and carotenoids by marine protozoan *Ocyropsis marina* studied by HPLC analysis of algal pigments [J]. *J. Plankton Res*, 1986, **8**: 827—836
- [14] Liu J K. Lakes of middle and lower basins of the Chang Jiang (China) [C]. In: F B Taub ed, Lake and Reservoirs [M], Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1984, 331—355
- [15] Mantoura R F C, Llewellyn C A. The rapid determination of algal chlorophyll and carotenoid pigments and their breakdown products in natural waters by reverse phase high performance liquid chromatography [J]. *Anal Chim Acta*. 1983. **151**: 297—314
- [16] Conover R J, Durvasula R, Roy S, Wang R. Probable loss of chlorophyll derived pigments during passages through the gut of zooplankton, and some of the consequences [J]. *Limnol Oceanogr*, 1986, **31**: 878—886

STUDIES ON PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS AND CHLOROPHYLL A DERIVATIVES OF LAKE DONGHU BY USING HPLC

LIU Hong¹, XIE Ping¹, ZHOU Jie², LIU Xuejun¹ and TANG Huijuan¹

(1. Donghu Experimental Station of Lake Ecosystems, State Key Laboratory for Freshwater Ecology and Biotechnology of China; Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072;
2. Fisheries college, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

Abstract: Pigments in seston of Lake Donghu and enclosures were studied by means of HPLC. There were totally 20 pigments separated in the study and the major carotenoids were fucoxanthin, alloxanthin, lutein, and zeaxanthin. The annual average concentration of each pigment at Station I was always the highest, and Station II ranked the second. Chlorophyllide a was the major degradation product of Chl a, comprising about 5% of the Chl a concentration. Other Chl a derivatives appeared mostly in minor quantities. The results of the enclosure experiment showed that there was a significant correlation between the concentration of the marker pigment and the biomass of the correspondent algae group. The correlation coefficients between Chl a and total phytoplankton biomass, Chl b and green algae, alloxanthin and cryptophytes, fucoxanthin and diatoms were 0.84, 0.77, 0.83 and 0.68, respectively. The results suggest that pigment analysis is a useful tool for monitoring phytoplankton structure because it is rapid and time saving.

Key words: High Performance Liquid Chromatography (HPLC); Marker pigment; Chlorophyll a derivatives; Carotenoids