

三种水华蓝藻对不同磷浓度生理响应的比较研究

谭 香^{1,2} 沈 宏^{1,2} 宋立荣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. 中国科学院研究生院,北京 100049)

摘要:本实验研究了铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa* FACHB469)、水华鱼腥藻 (*Anabaena flos-aquae* FACHB245) 和浮游颤藻 (*Oscillatoria planctonica* FACHB708) 对磷浓度变化的生理响应。结果表明,在缺磷条件下, *A. flos-aquae* 对低磷环境的适应能力较强, *O. planctonica* 其次, *M. aeruginosa* 最差;在磷充足条件,微囊藻对磷过量吸收的能力明显高于其他两种蓝藻。三种蓝藻胞外碱性磷酸酶活性 (APA) 与培养基中磷浓度呈负相关性,其产生碱性磷酸酶 (AP) 的能力由高至低为: *A. flos-aquae* > *O. planctonica* > *M. aeruginosa*。磷缺陷时 *A. flos-aquae* 产生的胞外 APA 约是 *M. aeruginosa* 的 10 倍,是 *O. planctonica* 的 5 倍。

关键词:水华蓝藻;缺磷胁迫;生长;磷吸收;碱性磷酸酶 (AP)

中图分类号:Q142 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-3207(2007)05-0693-07

磷是淡水中主要的限制性营养元素^[1]。大量的统计资料表明,水体磷浓度与藻类生物量之间呈显著正相关性^[2-5]。藻类群落演替也受水体磷浓度的影响。在营养水平相对较低的水体中,最早出现的蓝藻水华种类往往是鱼腥藻,其次是水华束丝藻;随着富营养化程度的加剧,占显著优势的水华种类往往是微囊藻。这种规律性的水华蓝藻演替已在国内外多个湖泊和水库中发现^[6]。此现象极可能与这些藻类对磷利用能力的差异有关,通过磷吸收动力学比较不同藻类对磷的竞争能力,有助于理解水体中藻类演替规律。而水体中的磷通常是以颗粒磷(生物、生物尸体及有机碎屑等)的形式存在,剩余部分为溶解性有机磷和无机磷。无机磷(H_2PO_4^- 和 HPO_4^{2-})是浮游植物能直接利用的磷,其含量往往不足湖水总磷浓度的 5%^[7]。水体中磷酸酶能催化磷酸酯类化合物水解产生正磷酸盐,这是水体中溶解性磷的重要来源^[8,9]。因此,藻类对磷的利用能力与胞外碱性磷酸酶活性密切相关。

本研究中我们选择了 *M. aeruginosa*、*A. flos-aquae*、*O. planctonica* 这三种常见的水华蓝藻为材

料,比较研究了不同磷浓度条件下它们的磷吸收动力学以及碱性磷酸酶活性,试图为探讨水华蓝藻的演替规律,揭示蓝藻水华形成机制提供一定的科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料 实验用藻种取自中科院典型培养物保藏委员会淡水藻种库 (FACHB),分别为铜绿微囊藻 FACHB469 (*Microcystis aeruginosa* FACHB469)、水华鱼腥藻 FACHB245 (*Anabaena flos-aquae* FACHB245) 和浮游颤藻 FACHB708 (*Oscillatoria planctonica* FACHB708)。

1.2 培养条件 采用 HGZ 培养基,培养温度 28℃,光照强度 25 $\mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$,光周期为 12 h/12 h。通过改变基础培养基中 K_2HPO_4 的含量配制不同磷浓度的培养基。

1.3 藻细胞磷饥饿处理 取对数生长期的藻细胞,4000 r/min 离心 7min,去上清液后用无磷 HGZ 培养基冲洗 3 遍,以去除藻细胞表面附着的磷,再将藻细胞转入无磷 HGZ 培养基中。隔天取样测 OD_{680} ,直

收稿日期:2005-10-27;修订日期:2006-12-30

基金项目:中国科学院知识创新工程重要方向性项目 (KSCX2-1-10);国家重点基础研究发展规划项目“水华蓝藻生消的生物学机制”(2002CB41230)资助

作者简介:谭香 (1980—),女,黑龙江鹤岗人;硕士研究生;主要从事藻类生理生态学研究。E-mail:tanxiang@wbpcas.cn. 李杰、赵小丽在实验过程中给予帮助,谨致谢忱

通讯作者:宋立荣, E-mail:lsong@hb.ac.cn

到藻细胞停止生长(即 OD₆₈₀变动在 ±5 %以内),且培养基中磷浓度低于检测限,可认为藻细胞内蓄积的磷基本耗完^[10],此藻液即可接入不同磷浓度的培养基中进行实验。

1.4 长期培养实验中磷浓度的设置 实验以 HGZ 培养基为基本成份,设置 8 个不同磷浓度(磷的当量)。其磷浓度设置如下:0.00 mg/L,0.002 mg/L,0.02 mg/L,0.20 mg/L,0.50 mg/L,1.00 mg/L,2.00 mg/L,6.95 mg/L(基础培养基磷含量)。pH 调至 8.0。

1.5 生长测定 叶绿素测定方法参见文献[11]。

1.6 无机磷测定 参照水质总磷的测定,钼酸铵分光光度法(Water quality-Determination of total phosphorus-Ammonium molybdate spectrophotometric method)GB11893-89^[12]。

1.7 碱性磷酸酶活力 (APA) 测定 参考 Ber-man^[13],以对硝基苯磷酸二钠盐(p-NPP)为底物,用分光光度法测定 APA。本实验中每隔 48h 测定 APA。该藻在某磷浓度下的 APA 为生长期间内多次

求得的平均值。活力单位(U)定义为每小时对硝基苯酚产生的量(以 μg 为单位)。

1.8 磷吸收动力学实验 实验以 HGZ 培养基为基本成份,设置 5 个不同磷浓度,三个平行。磷浓度设置如下:1,2,5,10,20 μmol/L。分别在接种 0h、2.5h 测定培养基中无机磷浓度。藻类干重的测定,具体做法参照 Handbook of phycological methods^[14],干重(DW)单位为 μg/mL。吸收速率 v 为 2.5h 内的磷浓度变化的平均速率。营养盐浓度与吸收速率的关系采用米氏方程 $v = V_m \cdot s / (K_m + s)$ 进行非线性回归分析,式中, s 为营养盐浓度; V_m 为最大吸收速率; K_m 为半饱和常数。

2 结果

2.1 磷饥饿培养

磷饥饿处理过程中,3 种水华蓝藻接种到无磷培养基后 OD₆₈₀的变化如表 1 所示。接种 1 周左右,藻细胞还能够较快的生长;在磷饥饿 12d 左右,藻细胞基本停止生长(即 OD₆₈₀变动在 ±5 %以内)。

表 1 3 种水华蓝藻在磷饥饿处理期间的 OD 值变化

Tab.1 Variation of OD₆₈₀ of the three strains inoculated in phosphorus-free medium

藻种 Strains	取样时间(天) Time (d)							
	0	2	4	6	8	10	12	14
<i>M. aeruginosa</i>	0.497	0.542	0.624	0.690	0.734	0.770	0.810	0.789
<i>A. flos-aquae</i>	0.536	0.584	0.652	0.751	0.788	0.801	0.796	0.799
<i>O. planctonica</i>	0.537	0.574	0.655	0.745	0.779	0.794	0.788	0.820

2.2 缺磷胁迫下接种后 2.5h 内的 3 种水华蓝藻对磷的吸收动力学

由图 1 可知,在不同的初始磷浓度下,*M. aeruginosa* 的吸收速率均比 *A. flos-aquae* 和 *O. planctonica* 高。*M. aeruginosa* 的最大吸收速率为 *A. flos-aquae* 的 21.4 倍,*O. planctonica* 的 9.8 倍。

将 3 种水华蓝藻对磷的吸收速率与其初始浓度

之间的关系进行非线性回归分析,均符合米氏方程,表明这 3 种水华蓝藻对磷酸盐的吸收是一个主动吸收的过程。

由非线性回归求得的最大吸收速率和半饱和常数见表 2。*A. flos-aquae* K_m 值最低、*M. aeruginosa* 的 K_m 值最高,*O. planctonica planctonica* 的 K_m 值介于两者之间。

表 2 3 种水华蓝藻对无机磷的半饱和常数和最大吸收速率

Tab.2 Half-saturation constants and maximal uptake rates for phosphate of the three strains

藻种 Strains	$K_m^{\dagger}$	V_m^*	V_m / K_m
<i>M. aeruginosa</i>	8.260 ±0.682	0.298 ±0.027	0.036
<i>A. flos-aquae</i>	2.199 ±0.480	0.013 ±0.001	0.006
<i>O. planctonica</i>	4.926 ±0.517	0.032 ±0.008	0.006

Note: V_m , maximal uptake rate [μmol P/ (mg dry weight · h)]; K_m , half saturation constant for phosphate uptake (μmol P/L)

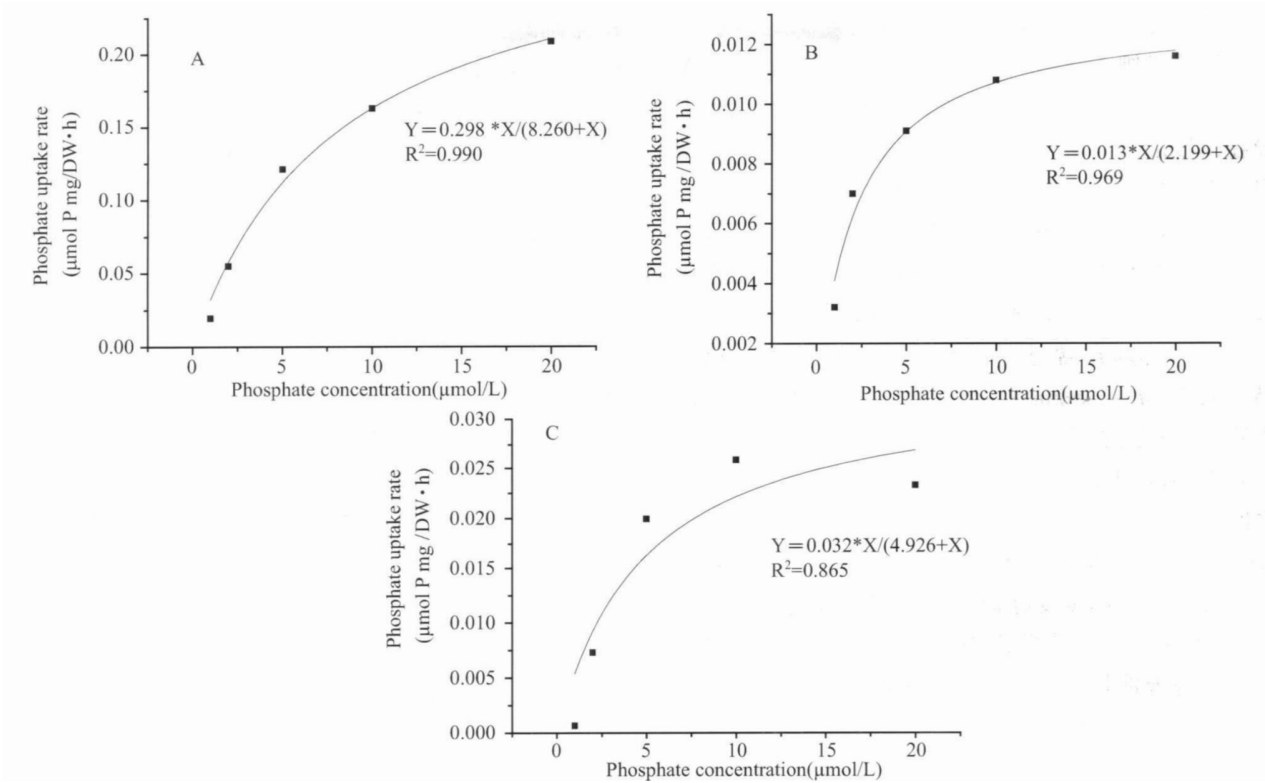


图1 三种蓝藻对磷酸盐的吸收(28)

Fig.1 Phosphate uptake rate of the three cyanobacteria (28)

(A) *M. aeruginosa*; (B) *A. flos-aquae*; (C) *O. planctonica*

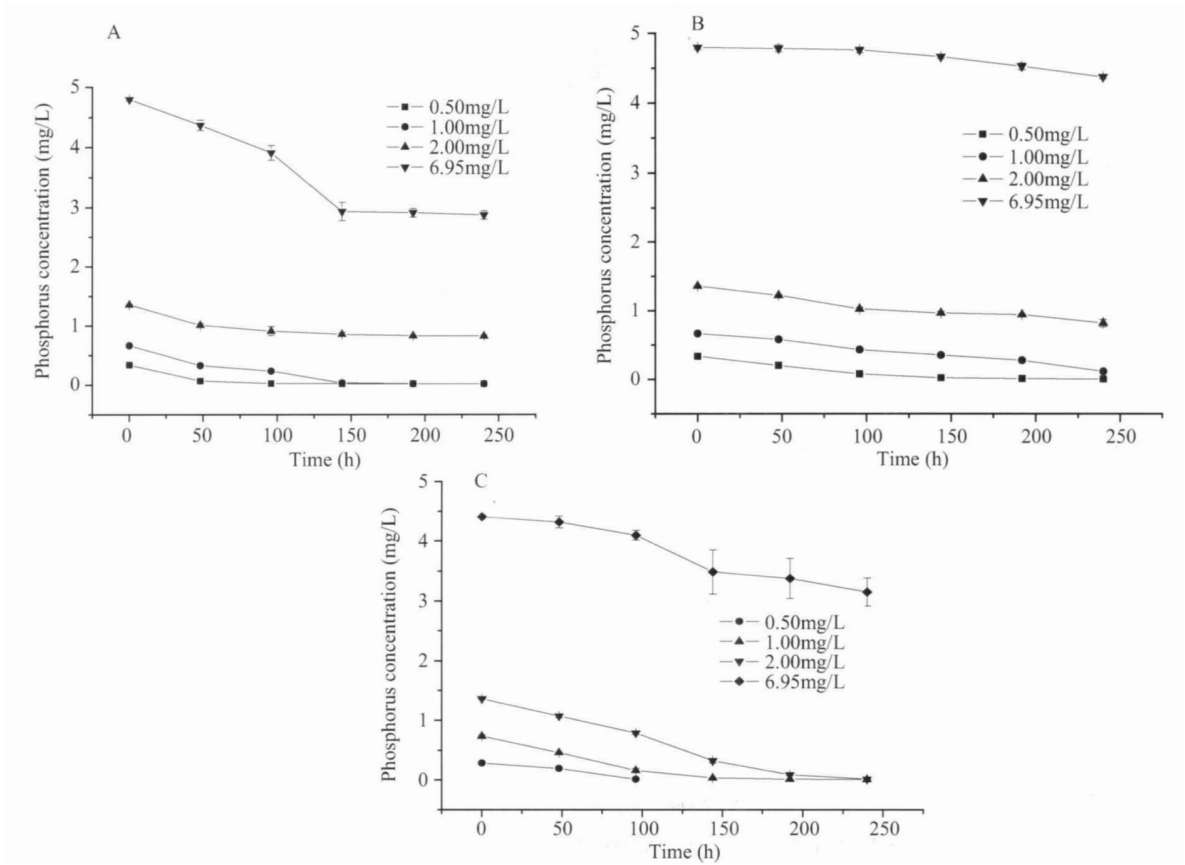


图2 加入三种缺磷细胞后培养基中磷浓度的变化

Fig.2 Variation of phosphorus concentration in the culture filtrates added with P-starved cells

(A) *M. aeruginosa*; (B) *A. flos-aquae*; (C) *O. planctonica*

2.3 3 种水华蓝藻对磷酸盐的吸收

经磷饥饿 2 周的 3 种水华蓝藻转入新鲜培养基后,它们对外源磷的吸收能力存在明显差别,这一差异在磷浓度为 6.95 mg/L 的培养基中表现得尤为突出。在初始接种生物量相同的条件下,生长 140h 后 *M. aeruginosa* 的培养基中磷浓度下降 1.8 mg/L, *A. flos-aquae* 磷浓度仅下降 0.2 mg/L;另一方面,这期间 *M. aeruginosa* 的叶绿素含量增加 0.1 μg/mL,而 *A. flos-aquae* 叶绿素含量却增加了 0.209 μg/mL。以上结果表明 *M. aeruginosa* 吸收的磷不仅仅用于增加生物量,更多的作为储备。*M. aeruginosa* 对磷的吸收效率远高于 *A. flos-aquae*, *O. planctonica* 介于两者之间。

2.4 3 种水华蓝藻 APA 比较

培养基中磷浓度越低,3 种水华蓝藻的胞外 APA 越高(图 3)。在一定范围内,3 种水华蓝藻胞外 APA 的倒数与外源培养基磷浓度存在正相关性(图 4)。

由图 3 可知,尽管 3 种水华蓝藻胞外 AP 对缺磷胁迫的响应趋势相同,但三者反应能力存在明显差别。在无磷条件下, *A. flos-aquae* 的胞外 APA 可达

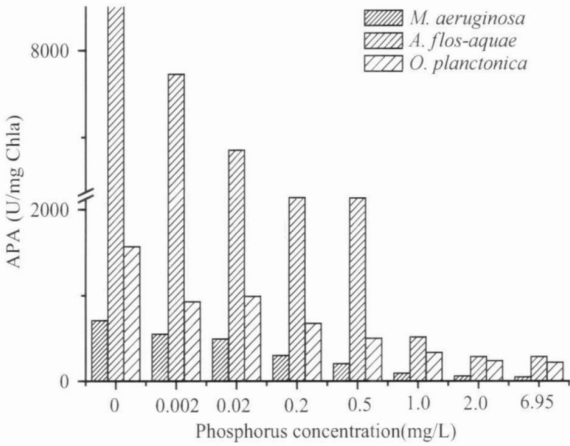


图 3 三种水华蓝藻 APA 在不同磷浓度培养基中的比较
Fig. 3 Comparison of extracellular APA of three bloom-forming cyanobacteria at different concentration of phosphorus

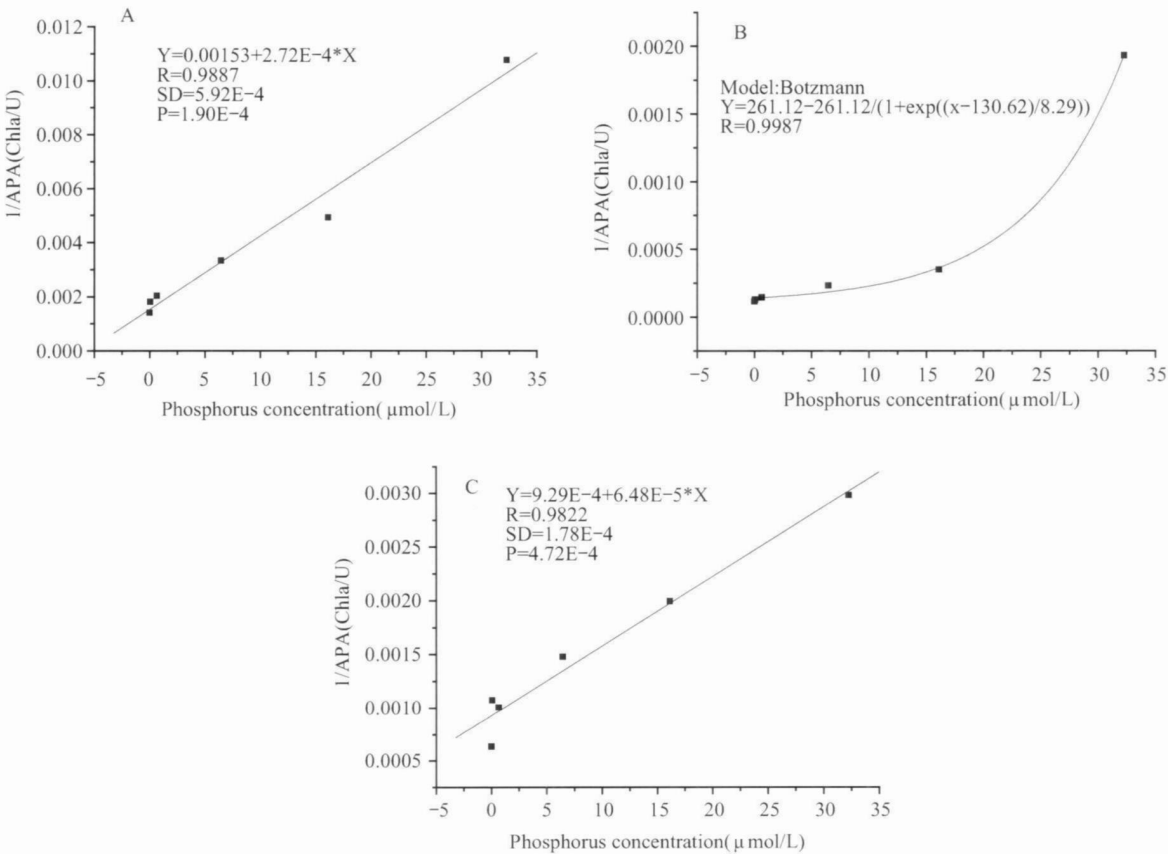


图 4 三种蓝藻胞外 APA 的倒数与磷酸盐浓度的关系

Fig. 4 Relationship between reciprocal of APA and phosphorus concentration
(A) *M. aeruginosa*; (B) *A. flos-aquae*; (C) *O. planctonica*

8500U,而 *M. aeruginosa* 的胞外 APA 仅为 700U,不及 *A. flos-aquae* 的 1/10, *O. planctonica* 胞外 APA 约为 *M. aeruginosa* 的 2 倍。在其他磷浓度下,胞外 APA 大小都存在如下关系: $A. flos-aquae > O. planctonica > M. aeruginosa$ 。

3 讨 论

3.1 饥饿培养

当环境中磷浓度较高时,某些藻类能大量吸收环境中的磷储存在体内;当环境中磷浓度较低时,藻体可利用贮存的磷在一段时间内维持继续增殖^[15]。因此,研究磷限制条件下的藻类的生长生理响应,需先对藻细胞进行磷饥饿处理。本研究发现,磷饥饿处理时间,不仅决定于种类差异,也与藻细胞的浓度有关。当初始藻细胞浓度为 OD₆₈₀ 0.5 左右时,约需 12d 左右的磷饥饿处理,藻体内储存的磷才接近耗尽,这与 Seok^[10]的研究报道基本一致。但以往文献报道磷饥饿处理时间一般为 3—5d,且未提及细胞浓度^[15,16]。

3.2 缺磷胁迫下藻类对磷的短期吸收动力学实验

Perry^[17]和 Suttle^[18]等的研究表明,浮游植物对无机氮、磷的吸收过程可用米氏方程来描述。如尖刺拟菱形藻对无机氮、磷的吸收动力学符合米氏方程^[19]。本研究表明, *M. aeruginosa*、*A. flos-aquae* 和 *O. planctonica* 对磷的吸收动力学规律也符合米氏方程,是一个主动吸收的过程。

藻细胞所处的营养状态对其吸收营养盐的速率有一定的影响。当将处于某种营养盐限制下的藻类移入该营养盐丰富的环境中,其吸收速率明显增加,且限制程度越大, V_m 越大^[18,20,21]。由于藻细胞营养状况的差异,用处于不同营养状态的藻类进行吸收动力学实验,所测得的 V_m 值就可能不同,这不利于结果的比较^[19]。有学者认为,当 K_m 值接近时,可以用 V_m 来评价藻对营养盐的吸收能力^[22]。 V_m 值较大的藻类,在高磷浓度时对磷的吸收能力强。本研究表明, *M. aeruginosa* 的吸收速率比 *A. flos-aquae* 和 *O. planctonica* 高,这表明在相同时间内,在磷酸盐丰富的情况下, *M. aeruginosa* 比 *A. flos-aquae* 和 *O. planctonica* 能吸收更多的磷储存在体内供应其生长,当外界磷浓度降低时,细胞中过量的磷营养可维持其种群维持一定时间的增长。有研究表明,水体磷供给波动较大时,微囊藻很容易成为优势种,这可能是由于微囊藻具有较高 V_m 值的缘故^[23]。

K_m 的大小是浮游生物种群在一定条件下对某

种营养盐环境长期适应的结果,是相对稳定的参数^[20,21]。通过比较 K_m 值的大小,可以反映种群对低磷环境的适应能力,以及与可溶性反应磷 (Soluble Reactive Phosphorus, SRP) 的亲合力。本实验中, *A. flos-aquae* 的 K_m 值最低, *M. aeruginosa* 的 K_m 值最高, *O. planctonica* 的 K_m 值介于两者之间,这表明 *A. flos-aquae* 和 *O. planctonica* 比 *M. aeruginosa* 具有更强的耐受低磷胁迫的能力。此结果与这 3 种水华蓝藻在低磷胁迫下的生长特征相似。

3.3 缺磷胁迫下 3 种蓝藻的胞外碱性磷酸酶活性 (APA) 的比较研究

本研究发现,磷浓度从 1.00 mg/L 下降到 0.00 mg/L 时, *M. aeruginosa*、*A. flos-aquae* 和 *O. planctonica* 的 AP 均相应的增强,且二者表现出较好的相关性。可以认为,在本实验培养条件下, 1.00 mg/L 磷浓度是这 3 种水华蓝藻 APA 的作用阈值。对于太湖水体中的浮游植物来说, 0.02 mg/L 的正磷酸盐磷浓度可能是激发浮游植物体中 APA 的阈值浓度^[23]。由于自然水体中磷的形态与浓度以及其他环境因子与培养基中差异较大,藻类在自然水体中的生长及生物量与培养基中差异较大,且水体中浮游植物 AP 的来源较培养基中更复杂,不同种类的浮游植物产生 AP 的能力也存在较大的差异,因此水体中溶解态无机磷浓度对藻类 APA 的作用阈值较纯培养下存在较大差异,但在低于该阈值下,两种环境中 APA 变化规律相似。

虽然在不同浓度无机磷作用下,3 种水华蓝藻 APA 随外界无机磷浓度的变化规律一致,但它们产生胞外 AP 的能力存在较大差异。产生这种差异的主要原因可能与它们摄取磷的能力有关。3 种蓝藻在短时间内对无机磷的最大吸收速率从大到小依次为: *M. aeruginosa*、*O. planctonica*、*A. flos-aquae*。这表明, *M. aeruginosa* 比 *O. planctonica* 和 *A. flos-aquae* 能更快的摄取外界的磷并储蓄在体内。在一定时间内,对磷吸收速率较高的藻比其他藻类能吸收更多的磷,其组织内的磷浓度也相对较高,所以其 APA 相对较低。因此,可以认为,这 3 种水华蓝藻 APA 与其细胞内的磷浓度负相关。在紫菜 *Porphyra umbilicalis* AP 研究中也得到类似结果^[24]。此外,这 3 种水华蓝藻产生胞外 AP 的能力可能还与藻细胞的表面积 (Surface Area) 与体积 (Volume) 有关。有研究表明,一般藻类的 SA/V 值较低,其 APA 较低,但也有少数种的 APA 与 SA/V 值相反^[25]。

本研究发现, *M. aeruginosa*、*O. planctonica* 和

A. flos-aquae 胞外 APA 不仅与正磷酸盐浓度有关,在磷限制下 ($< 0.20 \text{ mg/L}$),同时与其生长速率呈较好的负相关。此结果证明了在缺磷胁迫下能诱导藻类向胞外分泌 AP,但当环境中不存在可利用的 DOP 时,藻类 AP 的提高对维持自身的生长无任何帮助。因此,我们可以认为藻类 APA 的升高是缺磷胁迫条件下的自发生理响应。

从 *M. aeruginosa*、*O. planctonica* 和 *A. flos-aquae* 对磷的吸收规律可以看出,藻类摄磷和生长是两个不同的过程:在磷吸收最快的时期,其生长并不是最快的;当藻类对外界磷的吸收达到饱和时,其生长进入对数生长期。这可能与微囊藻对磷的奢侈性消费有关,当环境中营养磷浓度较高时,藻细胞过量吸收磷可成为微囊藻种群增长的添加剂^[15]。然而,对外界无机正磷酸盐吸收速率较高的 *M. aeruginosa*,其比生长速率并不是最高,这与微囊藻对磷的吸收效率有关。在一定时间内,增加相同的生物量,微囊藻比鱼腥藻和颤藻需要更多的磷。所以,当湖泊中可利用的磷浓度较低时,微囊藻通常不能形成水华^[26],往往是鱼腥藻和颤藻是水华的优势种群,如我国的洱海、千岛湖等湖泊^[27,28]。

以上研究结果为深入认识水华蓝藻应对磷的生理学机制,以及水华蓝藻对磷利用的差异和种群演替提供理论依据,对揭示蓝藻水华形成机制具有一定的指导意义。

参考文献:

- [1] Hecky R E, Kilham P. Nutrient limitation of phytoplankton in freshwater and marine environments: A review of recent evidence on the effects of Enrichment [J]. *Limnology and Oceanography*, 1988, **33** (4, part 2): 796—822
- [2] Ahlgren G. Phosphorus as growth-regulating factor relative to other environmental-factors in cultured algae [J]. *Hydrobiologia*, 1988, **170**: 191—210
- [3] Andersson G, Berggren H, Cronberg G, Gelin C. Effects of planktivorous and benthivorous fish on organisms and water chemistry in Eutrophic Lakes [J]. *Hydrobiologia*, 1978, **59**(1): 9—45
- [4] Schindler D W. Whole-lake eutrophication experiments with phosphorus, nitrogen and carbon [J]. *International Association of Theoretical and Applied Limnology*, 1975, **19**: 3221—3231
- [5] Schindler D W. Evolution of phosphorus limitation in lakes [J]. *Science*, 1977, **195**: 260—262
- [6] Liu Y D, Fan X, Hu Z Y. Research of Phycology in China [M]. Science Press. 2001 [刘永定, 范晓, 胡征宇主编. 中国藻类学研究. 科学出版社. 2001]
- [7] Wetzel R G. Limnology: lake and river ecosystems [M]. Academic press. 2001
- [8] Rose C, Axler R P. Uses of alkaline phosphatase activity in evaluating phytoplankton community phosphorus deficiency [J]. *Hydrobiologia*, 1997, **361**: 145—156
- [9] Jansson M, Olsson H, Pettersson K. Phosphatase: origin, characteristics and function in lakes [J]. *Hydrobiologia*, 1988, **170**: 157—175
- [10] OH S J, Yamamoto T, Kataoka Y, et al. Utilization of dissolved organic phosphorus by the two toxic dinoflagellates, *Alexandrium tamarense* and *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) [J]. *Fisheries Science*, 2002, **68**: 416—424
- [11] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris* [J]. *Plant physiology*, 1949, **24**: 1—15
- [12] State Environmental Protection Administration of China. Guide of analysis methods for water and wastewater [M]. (3rd edition.). Beijing: Publishing House of Environmental Science. 2002, 246 [国家环保总局. 水和废水监测分析方法. 第4版. 北京: 中国环境科学出版社. 2002, 246]
- [13] Berman T. Alkaline phosphatase and phosphorus availability in Lake Kinneret [J]. *Limnology and Oceanography*, 1970, **15**: 663—674
- [14] Sorokin C. Dry weight, packed cell volume and optical density [A]. In: Stein J (Eds.), *Handbook of phycological methods, culture methods and growth measurements* [C]. London: Cambridge University Press. 1973, 327
- [15] Gao X Q, Ren J C, Zong Z X, Cai X M. Studies on the nutrient energetics of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis*, 1994, **30**(40): 461—469 [高学庆, 任久长, 宗志祥, 蔡晓明. 铜绿微囊藻营养动力学研究. 北京大学学报(自然科学版), 1994, **30**(40): 461—469]
- [16] Zhou P J, Shen H, Lin J, et al. Kinetic studies on the effects of organophosphorus pesticides on the growth of *Microcystis aeruginosa* and uptake of the phosphorus forms [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2004, **72**: 791—797
- [17] Perry M J. Phosphate utilization by an oceanic diatom in phosphorus-limited chemostat culture and in the oligotrophic waters of the central North Pacific [J]. *Limnology and Oceanography*, 1976, **21**: 88—107
- [18] Suttle C A, Harrison P J. Ammonium and phosphate uptake kinetics of size-fractionated plankton from an oligotrophic freshwater lake [J]. *Journal of Plankton Research*, 1988, **10**: 133—149
- [19] Zhang C, Zou J Z. Nutrient uptake kinetics and growth under nutrient limitation of *pseudonitzschia* [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 1997, **28**(6): 599—603 [张诚, 邹景忠. 尖刺拟菱形氮磷吸收动力学以及氮磷限制下的增殖特征. 海洋与湖沼, 1997, **28** (6): 599—603]
- [20] Perry M J. Phosphate uptake by phytoplankton in the Central North Pacific Ocean [J]. *Deep-sea Research*, 1981, **28**(A): 39—49
- [21] Jiao N Z. Marine microplankton nitrogen uptake kinetics with special reference to size-fractionation [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 1995, **26**(2): 191—198 [焦念志. 海洋浮游生物氮吸收动力学及其粒级特征. 海洋与湖沼, 1995, **26**(2): 191—198]
- [22] Kromkamp J, Konopka A, Mur L R. Phosphorus uptake and photosynthesis by phosphate-limited culture of *Microcystis aeruginosa* [J].

- British Phycological Journal*, 1989, **24**: 347—355
- [23] Gao G, Gao X Y, Qin B Q, Ji J. Experimental study on the PO_4^{3-} —P threshold of the alkaline phosphatase activity in Taihu Lake [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2000, **12**(4): 353—358 [高光, 高锡芸, 秦伯强, 季江. 太湖水体中碱性磷酸酶的作用阈值. 湖泊科学, 2000, **12**(4): 353—358]
- [24] Hernández I, Fernández J A, Niell F X. Influence of phosphorus status on the seasonal variation of alkaline phosphatase activity in *Porphyra umbilicalis* (L.) Kützinger [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1993, **173**: 181—198
- [25] Hernández I, Christmas M, Whitton B A. Testing the allometric scaling of alkaline phosphatase activity to surface/ volume ratio in benthic marine macrophytes [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1999, **241**: 1—14
- [26] Nalewajko C, Murphy T P. Effects of temperature, and availability of nitrogen and phosphorus on the abundance of *Anabaena* and *Microcystis* in Lake Biwa, Japan: an experimental approach [J]. *Limnology*, 2001, **2**: 45—48
- [27] Dong Y X. Research on blue algae plankton bloom in Erhai Lake [J]. *Yunnan Environmental Science*, 1999, **18**(4): 28—31 [董云仙. 洱海蓝藻水华研究. 云南环境科学, 1999, **18**(4): 28—31]
- [28] Tan X P, Min H. Analysis of eco-environmental problems and control countermeasure in Qiandao Lake [J]. *Environmental Pollution & Control*, 2004, **6**(3): 200—203 [谭湘萍, 闵怀. 千岛湖生态环境主要问题及保护对策. 环境污染与防治, 2004, **6**(3): 200—203]

COMPARATIVE STUDIES ON PHYSIOLOGICAL RESPONSES AT PHOSPHORUS STRESS OF THREE WATERBLOOM-FORMING CYANOBACTERIA

TAN Xiang^{1,2}, SHEN Hong^{1,2} and SONG Li-Rong¹

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

2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049)

Abstract: In this paper, the physiological responses of the three waterbloom-forming cyanobacteria (*Microcystis aeruginosa* FACHB469, *Anabaena flos-aquae* FACHB245 and *Oscillatoria planctonica* FACHB708) at phosphorus limitation in stationary cultures were studied. The phosphorus uptake rate is hyperbolic correlated to the extracellular nutrient concentration as described by the Michaelis-Menten equation. K_m for phosphorus of *M. aeruginosa*, *A. flos-aquae* and *O. planctonica* was 8.260, 2.199 and 4.926, respectively, which indicated that the tolerant ability to the phosphorus stress was in the decreasing order of *A. flos-aquae*, *O. planctonica* and *M. aeruginosa* in the phosphorus deficient condition. The capacity to luxuriously uptake phosphorus of *M. aeruginosa* was higher than that of *O. planctonica* and *A. flos-aquae*. This result was consistent with the phosphorus uptake kinetics experiments of the three cyanobacteria. Alkaline phosphatase activity (APA) of cyanobacteria were inversely correlated with external phosphorus concentration. The APA was obviously promoted under phosphorus deficiency stress. The capacity of excreting AP in the three cyanobacteria was significantly different under the same phosphorus limited conditions (*A. flos-aquae* > *O. planctonica* > *M. aeruginosa*). Extracellular APA of *A. flos-aquae* was 10 and 5 times higher than that of *M. aeruginosa* and *O. planctonica*, respectively, when they were cultured in phosphorus deficient condition.

The studies compared phosphorus uptake kinetics and capacity of excreting AP in the three cyanobacteria, which would help to understand the population succession of cyanobacteria in the environmental waterbodies.

Key words: Waterbloom-forming cyanobacteria; Phosphorus-limited stress; Growth; Phosphorus uptake; Alkaline phosphatase