

不同铁浓度对单细胞和群体铜绿微囊藻生长的影响

汪育文¹, 李建宏^{1*}, 付鹿¹, 吴敏¹, 翁永萍¹, 周耀明²

(1. 南京师范大学生命科学学院, 南京 210046; 2. 南京师范大学化学科学学院, 南京 210046)

摘要: 分别在限铁和富铁的条件下, 比较研究了 *Microcystis aeruginosa* PCC7806(单细胞株) 和 *M. aeruginosa* XW01(群体株) 2 株铜绿微囊藻的生长、光合作用效率、铁载体分泌及其细胞对铁元素的积累。2 株藻的 ITS 序列相似性为 95%, 铁吸收调节蛋白基因 *fur* 的序列相似性为 98%, 二者具有很高的遗传相似性。研究表明, 在限铁条件下单细胞株微囊藻生长受到抑制, 在第 6 d 藻体黄化死亡, 但群体株在限铁条件下能维持一定的生长; 限铁条件下最大光能转化效率 (F_v/F_m) 群体株高于单细胞株, 二者分别为 0.182 ± 0.014 和 0.160 ± 0.017 。群体株比单细胞株有更高的光合作用能力; 2 株藻均可产生铁载体菌株, 其铁载体类型为羟肟酸盐型。在限铁条件下, 群体株比单细胞株产生更多的铁载体。通过测定藻体铁的含量, 发现缺铁条件下藻体积的铁含量不足富铁条件下的 1/3, 但不同铁浓度培养的 2 株藻之间铁含量差异不大。研究结果显示, 群体株比单细胞株有更强的适应低铁环境的能力, 其机制并非是由于二者对铁吸收和积累的差异导致, 可能是由于单细胞株的其他生理代谢过程对细胞内低铁状态更为敏感。

关键词: 铜绿微囊藻; 水华; 群体; 铁载体; 铁限制

中图分类号: X52 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)01-0254-06

Effects of Different Iron Concentrations on the Growths of a Unicellular Strain and a Colonial Strain of *Microcystis aeruginosa*

WANG Yu-wen¹, LI Jian-hong¹, FU Lu¹, WU Min¹, WENG Yong-ping¹, ZHOU Yao-ming²

(1. Life Sciences College, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China; 2. Chemical Sciences College, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China)

Abstract: We investigated the growth, photosynthetic efficiency, siderophore production and iron accumulation of two strains of *M. aeruginosa*, a unicellular strain *M. aeruginosa* PCC7806 and a colonial strain *M. aeruginosa* XW01, under iron-limited and iron-replete conditions. The identities of ITS and *fur* gene sequences of two strains were 95% and 98% respectively. That implied the two strains should be close relatives. Results showed the growths of two strains were severely inhibited under an iron-limited condition. The unicellular strain died in 6 days, whereas the colonial strain could maintain a weak growth in 10 days under the iron-limited condition. PSII maximum light energy transformation (F_v/F_m) of the colonial strain and the unicellular strain were 0.182 ± 0.014 and 0.160 ± 0.017 , respectively. The colonial strain displayed a higher photosynthetic oxygen evolution than the unicellular strain. Two strains could produce siderophores, which were hydroxamate type. The colonial strain produced more siderophores than unicellular strain under the iron-limited condition. Iron contents of two strains were less than 1/3 cultured in the iron-limited condition than in iron-replete condition, but no obvious difference appeared between the two strains. Our result demonstrated that the colonial strain have a stronger endurance than unicellular strain under the iron-limited condition. As two strains had almost same abilities of iron accumulation, the other physiological mechanisms in the unicellular strain should be more sensitive to lower iron level.

Key words: *Microcystis aeruginosa*; water blooms; colony; siderophore; iron-limited

蓝藻水华已成为严重影响水环境质量的全球性问题, 微囊藻(*Microcystis*) 是一个重要优势类群^[1~3]。迄今对微囊藻水华暴发的机制所知甚少。我国对微囊藻的研究大多侧重于光、氮、磷等大量元素的研究^[4~7], 对微量元素与微囊藻之间的关系研究较少。铁是浮游植物必需的微量营养, 它在某种程度上可以限制水体的初级生产力^[8,9]。在淡水水体中, 总铁含量虽然较高, 但铁与水体中有机物配体的强络合作用也可能导致浮游植物铁利用的限制^[10,11]。邢伟等^[12,13] 研究指出浮游藻类与滇池不同形态铁浓度有密切的联系。研究铁元素对微囊藻生长和生理代谢的影响规律具有十分重要的意义。

微囊藻在自然生态环境下均以群体状态存在, 而这种群体形态在实验室培养条件下很不稳定, 易于成为单细胞, 且不可逆转为群体^[14,15]。因此, 国内外大多数研究取得的实验数据为单细胞藻株获得。以群体微囊藻为研究对象获得的实验数据更接近自然状态的水华。本实验室在前期的工作中分离出 1 株可长期稳定培养的群体铜绿微囊藻, 本研究以此

收稿日期: 2008-01-22; 修订日期: 2008-03-24
基金项目: 人事部留学回国人员择优项目(2005); 江苏省科技厅社会发展基金项目(BS2007065)
作者简介: 汪育文(1983~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为环境微生物学, E-mail: polly84@sohu.com
* 通讯联系人, E-mail: lijianhong@njnu.edu.cn

为材料, 比较分析了群体和单细胞 2 株微囊藻对不同铁浓度环境的生理响应, 以探索铁环境条件变化对微囊藻水华形成的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 藻种及培养基

铜绿微囊藻 *Microcystis aeruginosa* PCC7806: 来自法国巴斯德研究所, 由法国 LCB-CNRS 张承才教授惠赠; 铜绿微囊藻 *Microcystis aeruginosa* XW01: 南京师范大学藻类工程实验室保存, 为南京玄武湖水华时期分离获得; 藻种用 BG-11 进行培养。

1.1.2 器皿处理

为减少铁污染, 所用的玻璃器均在 1 mol/L HCl 中浸泡 2~3 d, 然后用 Milli-Q (18.2 M Ω ·cm) 水冲洗, 再在 0.15 mol/L HNO₃ 中浸泡 3 d, 再用 Milli-Q 水冲洗干净在 60℃ 烘干, 121℃ 下高温高压灭菌 20 min 后备用。

1.2 方法

1.2.1 培养方法和条件

先配制无铁的 BG-11 培养基, 然后用柠檬酸铁铵配制 Fe³⁺ 贮备液, 添加到无铁的 BG-11 培养基中, 柠檬酸铁铵浓度分别为 0.0015 g/L 和 0.018 g/L, 分别代表限铁 (Fe-limited) 和富铁 (Fe-replete) 条件; 用 BG-11 培养基做批次培养, 到对数期时离心 (8000 r/min, 5 min) 收集细胞, 铁的 BG-11 培养基洗涤 3 次去铁, 再用适量的无铁 BG-11 培养基重悬。取少量重悬藻液作种源加入到不同 Fe³⁺ 浓度的 100 mL 锥形瓶中培养。

1.2.2 微囊藻铁吸收调节蛋白基因 *fur* 的鉴定

铜绿微囊藻 *fur* (ferrie uptake regulator) 基因鉴定: PCR 反应引物, 正向序列为 5'-AACTGTTGCCAA TGGCTCG-3', 反向序列为: 5'-TCGGAAATCCTGC AAGTCA-3', 95℃ 预变性 4 min, 95℃ 变性 40 s, 56℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 共 35 个循环后 72℃ 10 min, 取 3 μ L 于 1.5% 琼脂糖凝胶进行 PCR 产物电泳检测。

PCR 产物测序由上海博亚生物公司完成, 所得序列用 ClustalX (Version1.83) 和 MEGA3.1 软件包软件进行比对分析。

1.2.3 生长曲线的测定

群体株细胞在测定前先经涡旋振荡处理 3 min, 尽量使群体分散。用分光光度计测定光密度值 (D_{630nm}) 以确定藻的生长情况。

1.2.4 叶绿素 a 含量的测定

叶绿素的提取参照文献[16], 略作改进。测定其在 663 nm、645 nm 波长下的光吸收值, 用公式 Chla (mg/L) = $12.7 \times D_{663nm} - 2.35 \times D_{645nm}$ 计算 Chla 的含量。

1.2.5 光合作用参数的测定

光合放氧由薄膜氧电极 oxy-lab (英国 Hansatech) 测定, 用植物效率荧光仪 PEA (英国 Hansatech) 测定 PSII 最大光能转化效率 (F_v/F_m)。

1.2.6 铁载体的测定

采用 CAS 法测定测定铁载体^[17]。以哌嗪和 HCl 为缓冲液, 调节 pH=5.6。已接种的培养液经 10 000 r/min 离心分离 10 min, 取 1 mL 上清液与 1 mL CAS 溶液反应后, 30℃ 水浴 1 h, 稀释 10 倍, 后用分光光度计在 630 nm 测定。

铁载体类型的鉴定: Arnow 法鉴定儿茶酚型铁载体和 Csaky 法鉴定氧肟酸盐型铁载体^[18]。

1.2.7 微囊藻细胞内铁含量测定

采用原子吸收光谱法测定细胞内铁含量。微囊藻在不同铁浓度下培养 7 d, 样品离心后干燥至恒重, 样品用 5 份硝酸和 1 份高氯酸混合消解; 用超纯水定容后用原子吸收光谱仪 (澳大利亚 GBG-Avanta 系列) 测定微囊藻细胞内铁含量。

2 结果与分析

2.1 2 株藻的遗传相似性

分离培养的群体株 *M. aeruginosa* XW01 具有典型的铜绿微囊藻形态, 其 ITS 序列 (GenBank Accession No. EF116580) 与单细胞的模式藻株 *M. aeruginosa* PCC7806 ITS (GenBank Accession No. AM778951) 相似性达 95%, 可以肯定为 1 株铜绿微囊藻^[9]。为进一步验证该群体株与模式藻株的遗传相似性, 特扩增测序了铁代谢相关的 *fur* 基因序列 (GenBank Accession No. EU248956), 与模式藻株 *M. aeruginosa* PCC7806 的 *fur* 基因 (GenBank Accession No. AY641528) 比较可见, DNA 水平上仅存在 6 个位点的差异, 同源性为 98%, 这些碱基的不同均出现在简并密码子中, 相应地翻译成氨基酸的序列完全一致。因此, 尽管 2 株藻分别为单细胞和群体形态, 但 2 株藻均属于铜绿微囊藻, 并且在遗传特征上具有很高的相似性。

2.2 不同铁浓度下微囊藻的生长状况

2 株藻在限铁条件和富铁下生长有显著差异, 与富铁培养条件下相比, 限铁条件下微囊藻藻体发

黄,限制条件抑制了微囊藻的生长(图 1). 2 株不同微囊藻对限铁环境的反应程度明显不同,限制铁 10

d 内,群体株虽然藻体发黄,但是仍能维持继续生长. 而单细胞株在第 6 d 后,藻体死亡.

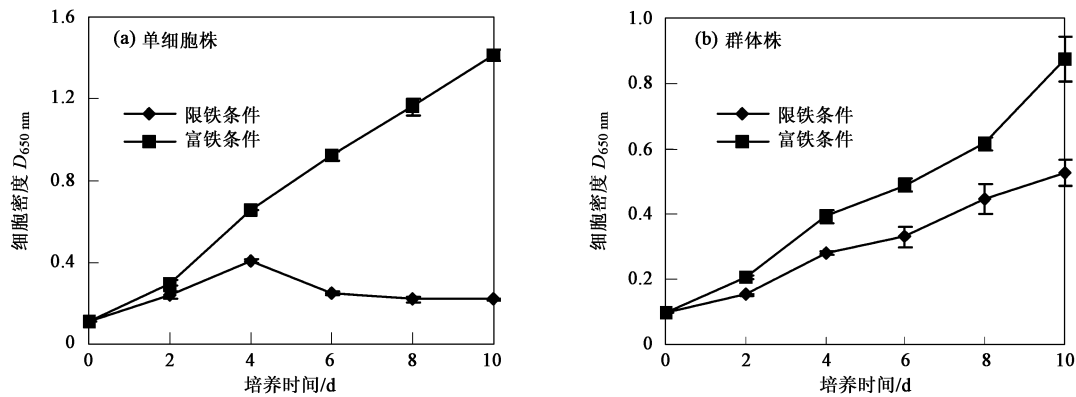


图 1 微囊藻在限铁和富铁培养下的生长
Fig. 1 Growth of *M. aeruginosa* PCC7806 and *M. aeruginosa* XW01 in iron-limited or iron-replete media

2.3 不同铁浓度对 2 株藻光合作用的影响

从不同铁浓度对培养 4 d 的 2 株藻光合作用的影响来看(表 1),与铁丰富条件下的细胞相比,缺铁条件下细胞光合放氧速率和 PSII 最大光能转化效率(F_v/F_m)低,由此可见铁对铜绿微囊藻的光合作用能力有显著影响. 铁是电子传递过程中重要的氧

化还原催化剂,因此铁浓度的高低必然影响光化学能的转化,从而影响光合作用活性. 比较 2 株藻可见,无论是光合放氧活性还是 F_v/F_m ,单细胞株低于群体株. 低铁条件下,群体株的光合放氧活性高于单细胞株,可能由于群体株对低铁更具有耐受性.

2.4 不同铁浓度下微囊藻铁载体的分泌

表 1 微囊藻在限铁和富铁培养下的光合作用参数

藻株	光合放氧速率 $\mu\text{mol} \cdot (\text{mg} \cdot \text{min})^{-1}$		PSII 最大光能转化效率 (F_v/F_m)	
	限铁条件	富铁条件	限铁条件	富铁条件
单细胞株	1.639 ± 0.107	2.901 ± 0.080	0.160 ± 0.017	0.460 ± 0.015
群体株	1.837 ± 0.116	3.121 ± 0.091	0.182 ± 0.014	0.474 ± 0.020

细菌可通过产生特异的铁螯合剂铁载体从环境中获得难以利用的铁. 微囊藻为革兰氏阴性蓝细菌,测定结果显示,微囊藻也可以向培养基中分泌铁载体. 图 2 所示为不同培养时间铁载体的产生量. 由图 2(a)和 2(b)可以看出无论是在限铁条件还是富铁条件下,在培养前 4 d 内,2 株微囊藻培养液中铁载体的量几乎相当. 但随着培养时间的延长,在缺铁条件下,藻细胞逐渐死亡,铁载体的合成逐渐下降. 对于单细胞株,培养到 6 d 时,铁载体的水平已接近为 0,而群体株在 8 d 内仍有一定量的铁载体的合成.

为了解在不同铁浓度下,每个细胞产铁载体的相对产量,通过单位叶绿素产铁载体的量来衡量. 从图 2(c)和 2(d)可以看出,对于单细胞株,在限铁条件下前 2 d 产生铁载体的量高于在富铁条件下,其后迅速下降. 而对于群体株,在缺铁条件下,8 d 内铁载体的合成一直处于最高水平. 综合细胞生长和铁载体之间的关系来看,铁载体的合成分泌不仅与外界

铁浓度有关,同时与细胞的生长代谢密切相关.

2.5 微囊藻产铁载体的类型

微生物产生的铁载体主要有 2 类,即儿茶酚盐型和氧肟酸盐型. 表 2 列出了 2 种状态微囊藻产铁载体比较鉴定的结果. 由此可见 2 种状态微囊藻产铁载体类型均为氧肟酸盐型. Armsterong 等^[20]检测海洋蓝绿藻(*Agmenidium quadruplicatum*)产生的铁载体为氧肟酸盐型. Trick 等^[21]通过实验指出聚球藻(*Synechococcus* sp. PCC7942)、多变鱼腥藻(*Anabaena variabilis* ATCC29413)产生的铁载体均为氧肟酸盐型. 本研究中的 2 株淡水蓝细菌产铁载体的种类与上述海洋蓝细菌分泌铁载体种类一致.

2.6 不同铁浓度下微囊藻的铁含量

比较在不同铁浓度培养条件下,2 株藻细胞中铁的含量如图 3 所示,在铁限制培养条件下,藻体中的铁含量远低于富铁条件下的含量. 无论是缺铁条件下还是富铁条件下,2 株藻之间的铁含量差异不

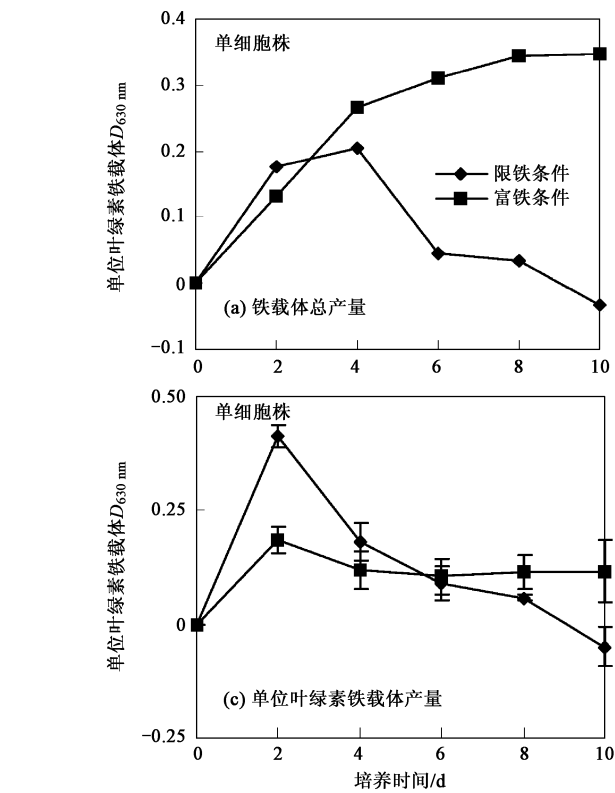


图 2 微囊藻限铁和富铁培养下铁载体的产生

Fig. 2 Siderophore production of *M. aeruginosa* PCC7806 and *M. aeruginosa* XW01 in iron-limited or iron-replete media

表 2 Arrow 法和 Csaky 法特异性检测微囊藻铁载体类型

Table 2 Specific assay of siderophore from *M. aeruginosa* PCC7806 and *M. aeruginosa* XW01 by Arrow method and Csaky method

儿茶酚盐型铁载体	反应液颜色	羧酸盐型铁载体	反应液颜色
儿茶酚溶液	紫红色	胍胺溶液	紫红色
群体株	黄色	XW01 铁载体	紫红色
单细胞株	黄色	PCC7806	紫红色
无菌双蒸水	黄色	无菌双蒸水	黄色

大, 单细胞株细胞中的铁含量略高于群体株.

3 讨论

自然界中微囊藻一般由多糖粘结在一起而形成肉眼可见的群体, 而通过分离纯化转入实验室无机营养培养基培养后, 这种群体形态往往消失, 只以单细胞存在. 比较研究群体微囊藻的生理特性可更进一步接近水华发生的机制. 目前对群体和单细胞微囊藻之间存在的生理代谢差异性了解甚少. 除雷腊梅等^[21]报道了铜绿微囊藻 2 种表型的生长生理特性及毒性组成比较之外, 众多的微囊藻研究也甚少提及它们的形态. 一般认为群体微囊藻在自然状态下能利用其上浮性更好地利用光能、抗胁迫等生存优势. Wu 等^[21]通过实验指出, 在 Cu^{2+} 胁迫条件下, 群

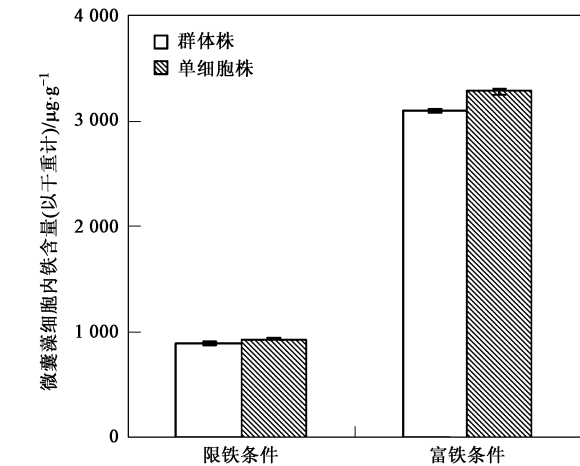
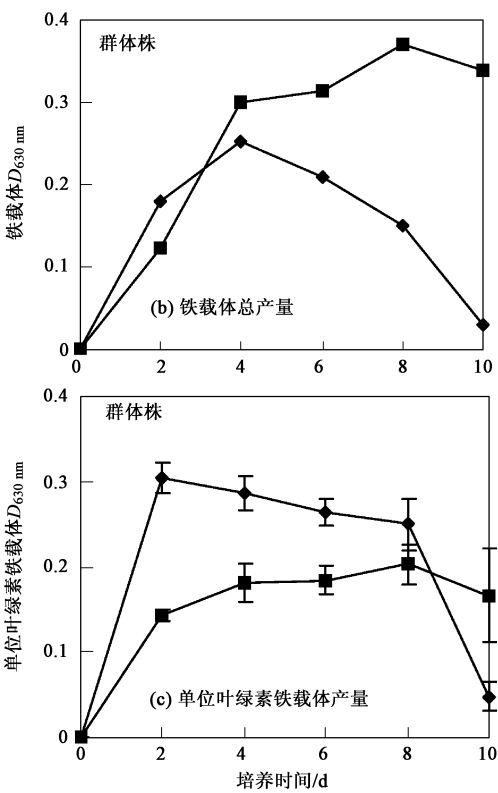


图 3 微囊藻在限铁和富铁培养下细胞内铁含量

Fig. 3 Iron concentrations of *M. aeruginosa* PCC7806 and *M. aeruginosa* XW01 cultured in iron-limited or iron-replete media

体微囊藻比单细胞微囊藻具有更高的耐受性. 本研究选择了单细胞和群体培养 2 种形态的同种微囊藻进行了比较分析, 从 ITS 序列和 *fur* 基因比较来看, 二者具有很近的亲缘关系. Fur 蛋白介导调节细胞内铁代谢, 控制着细菌中多种依赖铁的基因的表达, 包括与铁载体的生物合成和降解有关的酶以及调控

蛋白、铁载体、膜上的蛋白等基因^[24]. 2 株藻 *fur* 基因的相似性也提示二者铁吸收的能力相近. 不同铁条件下培养的 2 株藻有相近的铁含量也证明了这一点.

群体株较单细胞株在低铁条件下具有更好的耐受性. 有研究认为, 浮游生物群体种类比单细胞积累更多的营养, 其多糖可吸附更多的金属元素^[25-27]. 但在本研究的测定显示尽管群体分泌更多的铁载体, 但并没有比单细胞株积累更多的铁. 因此, 群体株在铁限制条件下维持生长的能力并非是通过积累更多的铁离子来实现的. 单细胞株对低铁的耐受性较差, 应该是由于其他的生理代谢过程对细胞的低铁水平更敏感所致.

从数值上看, 单细胞藻的铁含量略高于群体. 推测其原因为: 细胞中铁主要和蛋白质等原生质结合, 而群体中含有更多的细胞外壁多糖. 在单位干重中, 群体的原生质比例低于单细胞. 因此, 在单位细胞具有相同铁含量的情形下, 群体总生物量中的铁含量会略低.

群体株合成较多的铁载体有可能跟铁载体运送铁需要穿过更多的多糖屏障有关, 即需要更高的铁载体浓度才能有效地扩散到群体内部细胞的表面.

Murphy 等^[28]认为蓝细菌之所以能在水体中占优势, 是因为蓝细菌能产生铁载体(siderophore)螯合环境中的铁, 与水中不溶的铁形成“Fe-铁载体”络合物, 通过细胞膜的运输蛋白质吸收进入细胞, 并在细胞内释放, 促进蓝藻对铁的吸收^[29-31]. 过去已有一些对蓝细菌铁载体研究的报道, 如聚球藻(*Synechococcus* sp. PCC7002)^[32]、聚球藻(*Synechococcus* sp. PCC 7942)、多变鱼腥藻(*Anabaena variabilis* ATCC 29413)^[21]、柱孢鱼腥藻(*Anabaena cylindrica*)^[33,34]、浮游蓝丝藻(*Planktothrix agardhii*)^[35]和弱细颤藻(*Oscillatoria tenuis*)^[36]等蓝细菌都是通过产铁载体来竞争环境铁的菌株, 但这些研究多数集中在海洋种类, 淡水蓝细菌报道较少, Xing 等^[37]最近报道了微囊藻具有产铁载体的能力, 本研究结果与其一致.

本研究中无论富铁还是限铁条件下, 2 株藻均有较高的铁载体产生, 推测其原因可能是培养基中与柠檬酸络合的铁并不能直接被微囊藻利用, 细胞必须通过其自身合成的铁载体, 从柠檬酸铁分子中竞争络合铁离子, 才能转变成可直接转运进入细胞状态的铁.

4 结论

(1) 限铁条件下, 严重限制了微囊藻的生长, 光合作用效率显著降低, 群体株在低铁条件比单细胞株具有更强的耐受性, 其机制并非是群体微囊藻积累了更多的铁.

(2) 2 株微囊藻在富铁和限铁条件下均产生铁载体, 限铁条件下群体株比单细胞株有更强的铁载体产生能力.

(3) 铜绿微囊藻产生的铁载体为氧羟酸盐型铁载体.

参考文献:

- [1] Shen H, Song L R. Comparative studies on physiological responses to phosphorus in two phenotypes of bloom-forming *Microcystis* [J]. *Hydrobiologia*, 2007, **592**: 475-486.
- [2] Chen F Z, Xie P, Qin B Q. Different competitive outcomes among four species of cladocerans under different alga combinations of colonial *Microcystis* spp. and green alga *Scenedesmus obliquus* [J]. *Hydrobiologia*, 2007, **581**: 209-215.
- [3] Haande S, Ballot A, Rohrlack T, et al. Diversity of *Microcystis aeruginosa* isolates (Chroococcales, Cyanobacteria) from East-African water bodies [J]. *Arch Microbiol*, 2007, **188**: 15-25.
- [4] 门玉洁, 胡洪营. 芦苇化感物质 EMA 对铜绿微囊藻生长及藻毒素产生和释放的影响 [J]. *环境科学*, 2007, **28**(9): 2058-2062.
- [5] 万蕾, 朱伟, 赵联芳. 氮磷对微囊藻和栅藻生长及竞争的影响 [J]. *环境科学*, 2007, **28**(6): 1230-1235.
- [6] 李磊, 侯文华. 荷花和睡莲种植水对铜绿微囊藻生长的抑制作用研究 [J]. *环境科学*, 2007, **28**(10): 2180-2186.
- [7] 施玮, 吴和岩, 赵耐青, 等. 淀山湖水质富营养化和微囊藻毒素污染水平 [J]. *环境科学*, 2005, **26**(5): 55-61.
- [8] 李东侠, 丛威, 蔡昭铃, 等. Fe^{3+} 对赤潮异弯藻生长和光合作用的影响 [J]. *应用与环境生物学报*, 2003, **9**(3): 254-258.
- [9] 吕秀平, 胡晗华, 张栩. Fe^{3+} 对浮游颤藻生长和光合作用的影响 [J]. *水生生物学报*, 2005, **29**(3): 318-322.
- [10] 储昭升, 金相灿, 阎峰, 等. EDTA 和铁对铜绿微囊藻和四尾栅藻生长和竞争的影响 [J]. *环境科学*, 2007, **28**(11): 2457-2461.
- [11] Lidia P, Alicia K. Is iron a limiting factor of *Nodularia spumigena* blooms? [J]. *Oceanologia*, 2003, **45**(4): 679-692.
- [12] 邢伟, 李敦海, 沈银武, 等. 滇池试验围隔内不同形态铁浓度的变化与物化因子的关系 [J]. *水生生物学报*, 2006, **30**(2): 146-151.
- [13] 邢伟, 李敦海, 沈银武, 等. 滇池控藻围隔中水生植物和浮游藻类对不同形态铁浓度的影响 [J]. *农业环境科学学报*, 2006, **25**(6): 1571-1575.
- [14] Hailer S, Naithani V, Viswanathan P N, et al. Cyanobacterial toxins: a growing environmental concern [J]. *Chemosphere*, 2003, **52**: 1-21.
- [15] Shirai M, Matsumaru K, Ohtake A. Development of a solid medium for growth and isolation of axenic *Microcystis* strains (Cyanobacteria) and improved procedure for purification of culture [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1989, **55**: 2569-2571.

- [16] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002. 72-75.
- [17] 陈绍兴. 假单胞菌 SPF-1 产铁载体条件及其铁载体性质的研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2005.
- [18] 孙红启. 黑曲霉 An76 铁载体的研究[D]. 济南: 山东大学, 2005.
- [19] 汪育文, 李建宏, 吴敏. 等. 南京玄武湖微囊藻水华种类组成的研究[J]. 环境科学, 2007, **28**(10): 2187-2191.
- [20] Amsterong J E, Baalen C V. Iron transport in microalgae: The isolation and biological activity of a hydroxamate siderophore from the blue-green alga *Agmenellum quadruplicatum* [J]. Journal of General Microbiology, 1979, **111**: 253-262.
- [21] Trick G, Alison K. Isolation and Purification of Siderophores Produced by Cyanobacteria, *Synechococcus* sp. PCC 7942 and *Anabaena variabilis* ATCC 29413 [J]. Current Microbiology, 1992, **24**: 241-245.
- [22] 雷腊梅, 宋立荣, 刘永定. 铜锈微囊藻两种表型的生长生理特性及毒素组成比较分析[J]. 水生生物学报, 2001, **25**(3): 205-209.
- [23] Wu Z X, Gan N Q, Huang Q, *et al.* Response of *Microcystis* to copper stress: Do phenotypes of *Microcystis* make a difference in stress tolerance? [J]. Environmental Pollution, 2007, **14**: 7324-7330.
- [24] 李俊峰. 有益菌 A18 菌株铁载体的研究和铁吸收调节蛋白 (Fur) 的克隆和表达[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2005.
- [25] Reynolds C S. Variability in the provision and function of mucilage in phytoplankton: facultative responses to the environment [J]. Hydrobiologia, 2007, **578**: 37-45.
- [26] De Philippis R, Vincenzini M. Exocellular polysaccharides from cyanobacteria and their possible applications [J]. FEMS Microbiology Reviews, 1998, **22**: 151-175.
- [27] Parker D L, Mihalick J E, Plude J L, *et al.* Sorption of metals by extracellular polymers from the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* f. *flo-saquae* strain C3-40 [J]. Journal of Applied Phycology, 2000, **12**: 219-224.
- [28] Murphy T P, Lean D R S, Nalewajko C. Blue-green algae: Their excretion of iron-selective chelators enables them to dominate other algae [J]. Science, 1976, **192**: 900-902.
- [29] Ashleigh S G, Stuart A W, Angus B. Cooperation and competition in pathogenic bacteria [J]. Letters to Nature, 2004, **430**: 1024-1027.
- [30] Faraldo-Gomez J D, Sansom M S P. Acquisition of siderophores in gram-negative bacteria [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2003, **4**: 105-116.
- [31] Anif K, Geetha R, Akolkar A, *et al.* Differential cross-utilization of heterologous siderophores by nodule bacteria of *Cajanus cajan* and its possible role in growth under iron-limited conditions [J]. Applied Soil Ecology, 2006, **34**: 19-26.
- [32] Wilhelm S W, Maxwell D P, Trick G C. Growth, iron requirements and siderophore production in iron-limited *Synechococcus* PCC7002 [J]. Limnol Oceanogr, 1996, **41**(1): 89-97.
- [33] Yusai I, Keishi I, Shigeru O. Two structural isomeric siderophores from the freshwater cyanobacterium *Anabaena cylindrica* (NIES-19) [J]. Tetrahedron, 2001, **57**: 9093-9099.
- [34] Yusai I, Keishi I, Shigeru O. The absolute stereochemistry of anachelins, siderophores from the cyanobacterium *Anabaena cylindrica* [J]. Tetrahedron, 2004, **60**: 9075-9080.
- [35] Takashi N, Akio I, Kazuo M. Growth characteristics and growth modeling of *Microcystis aeruginosa* and *Planktothrix agardhii* under iron limitation [J]. Limnology, 2007, **8**: 261-270.
- [36] Brown M, Trick G. Response of the cyanobacterium, *Oscillatoria tenuis*, to low iron environments: the effect on growth rate and evidence for siderophore production [J]. Arch Microbiol, 1992, **157**: 349-354.
- [37] Xing W, Huang W M, Li D H, *et al.* Effects of Iron on Growth, Pigment Content, Photosystem II Efficiency, and Siderophores Production of *Microcystis aeruginosa* and *Microcystis wesenbergii* [J]. Current Microbiology, 2007, **55**: 94-98.