

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2017101704

周燕平, 张旭峰, 贾沛莉, 等. 基于分子生物学的不同环境因子影响水华藻类生长和产毒的研究进展[J]. 环境化学, 2018, 37(7): 1474-1481.

ZHOU Yanping, ZHANG Xufeng, JIA Peili, et al. A review on factors affecting algal growth and toxin production based on molecular biology[J]. Environmental Chemistry, 2018, 37(7): 1474-1481.

基于分子生物学的不同环境因子影响水华藻类生长 和产毒的研究进展*

周燕平 张旭峰 贾沛莉 代瑞华**

(复旦大学环境科学与工程系, 上海, 200433)

摘 要 近年来, 水体富营养化引起的有害水华暴发已经成为全球性的环境问题. PCR 技术和高通量技术的发展及其在藻类研究领域中的应用, 促进了藻类基因组学和转录组学的发展, 丰富了藻类基因信息. 从分子生物学角度研究有害藻类频发和藻毒素产生的机理成为国内外的研究热点. 本文对近年来从分子生物学角度研究有害藻类产生的物理、化学及其他影响因素进行综述, 总结不同环境因素对藻类生长和产毒影响的研究现状及进展, 有助于从基因表达及调控角度研究藻华的形成及藻类的产毒机制, 阐明其与环境因子的关系, 具有显著的科学和实际意义.

关键词 分子生物学, 生长, 产毒, 环境因素, 水体富营养, 藻华.

A review on factors affecting algal growth and toxin production based on molecular biology

ZHOU Yanping ZHANG Xufeng JIA Peili DAI Ruihua**

(Department of Environmental Science & Engineering Fudan University, Shanghai, 200433, China)

Abstract: Harmful algal blooms (HABs) induced by eutrophication have become a global environmental problem recently. With the development of PCR and high-throughput technology, its application in algae genomics and transcriptomics has been promoted. It enriches the algae gene information and provides new method to further study the mechanisms of algal blooms and toxin production. On the perspective of molecular biology, the mechanism of HABs and algal toxins production have become a worldwide hotspot. The environmental factors, such as the physical, chemical and others, are reviewed to find its effects on algae growth and toxin production based on molecular biology. The research progress based on molecular biology is also summarized. This review could be helpful to investigating the mechanisms of algal blooms and toxin production from the perspective of molecular biology. It is significant to clarify their relationship from the perspective of gene expression.

Keywords: molecular biology, growth, toxin, environmental factors, eutrophication, algae bloom.

近年来有害藻华(harmful algal blooms, HABs)发生的规模与频率不断增加, 有害藻华产生的危害巨

2017 年 10 月 17 日收稿(Received: October 17, 2017).

* 国家自然科学基金(51678159)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China(51678159).

** 通讯联系人, Tel: 021-55664354, E-mail: rhdai@fudan.edu.cn

Corresponding author, Tel: 021-55664354, E-mail: rhdai@fudan.edu.cn

大,其产生的毒素会危害人类的身体及水生动物,破坏生态平衡使鱼类资源受损,同时也使水体的其它利用价值降低^[1-2].有害藻华的危害引起人们广泛的关注,许多科学家正在努力探索影响有害藻华形成及毒素产生的环境因子^[3],实验室研究已经证明影响有害藻类生长和产毒的环境因子有:温度、光、水体扰动、营养盐、微量元素及其它有机物等^[4-5].不同环境因子的变化能够从不同程度上影响有害藻类的生长代谢,从而影响毒素的产生,其中,光和温度是藻类生长过程中必不可少的物理因素^[6-8];氮、磷是维持藻类生长所必需的营养因子,尤其是氮元素参与毒素合成,从而直接影响了有害藻华形成的规模和程度及藻毒素的产生^[9-10];一些微量元素作为藻类生长过程中光合作用与呼吸作用的辅酶,间接影响藻类的生长与产毒^[11-12];目前,一些其他有机物,如多酚及环境激素等物质的出现,也严重影响着藻类生长^[13-15].此外,传统环境因素与其他有机物之间也存在相互作用,这些作用对有害藻华暴发也有较大的影响^[14].

随着科学技术的发展,藻类基因组和转录组水平的研究将有助于我们更快、更准确地了解各种藻类的独特之处,获得丰富的基因信息,清楚不同环境因子引起的代谢途径,有助于了解 HABs 形成和毒素产生的分子机制,以便更好地控制 HABs 的形成和毒素的产生^[16].PCR 技术和高通量技术的普及和进步,使我们从分子生物学角度深层次地研究藻类生长和毒素产生的机理.最近已有一些分子生物学方法(例如,下一代测序和微阵列)应用于研究 HABs 形成物种的基因组和转录组特征^[17-18].图 1 为近年来该研究方向热点的简略图.科学家们通过分子生物学手段研究光照对有害藻类生长繁殖及产毒的方向主要集中在光照强度、光质和光周期等因素上^[19-21];对于温度的研究主要为实地水温和实验室不同温度下有害藻生长及产毒的变化情况^[22-24],但光照与温度对藻类生长与产毒的影响机理依旧没有明确的定论,仍需要更多分子生物学方法进行相关研究及讨论;相对于其他环境影响因素,营养盐的研究较多,主要集中在不同种类氮磷限制与氮磷浓度的高低对有害藻类生长繁殖及产毒方面^[25-26],通过不同生物学方法研究环境因子对藻类生长与产毒相关基因的变化情况与藻类的生理变化相对应,以确定藻类生长与产毒的机理,旨在为控制有害藻华暴发提供理论依据,但大部分研究只注意无机营养物质对藻类生长及产毒的影响^[27-28],未来应对精氨酸、亮氨酸等含氮有机物予以充分的关注;微量元素在分子生物学方面对藻类的研究相对较少,但其对藻类生长与产毒的影响不容忽视^[29-30];多酚,阿莫西林,阿特拉津等^[31-32]多种新型污染物的不断出现,对藻类生长与产毒带来的影响也成为未来研究的热点.

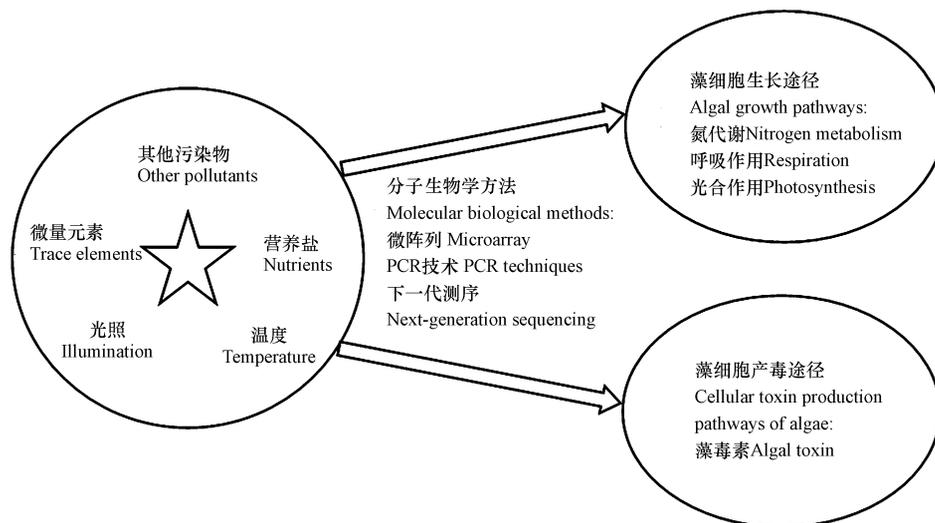


图 1 研究热点简略图

Fig.1 A brief diagram of research hotspots

本文综述了国内外基于分子生物学的关于有害藻类与不同环境因子关系的研究现状,从分子生物学角度揭示环境因子对有害藻类生长和产毒的影响,深入讨论藻类特定代谢途径在不同环境条件下的响应,有助于深入了解近富营养化水体中 HABs 发生的机制及藻毒素的产生机理,为进一步控制有害藻华暴发和藻毒素产生提供分子生物学方面的机理支持.

1 物理因素对藻类生长和产毒影响的分子生物学研究 (Physical factors effects on the algae growth and toxin production based on molecular biology)

1.1 光照

光是藻类进行光合作用不可或缺的条件, Kaebnick 等研究表明当铜绿微囊藻生长在高光强下时, 参与藻毒素合成的 *mcyB* 和 *mcyD* 基因转录表达会增加^[33]. Makower 等通过微阵列和实时荧光定量 PCR 的方法研究野生型与缺少 *mcyB* 突变体的铜绿微囊藻中与中心代谢、光合作用和能量代谢及产毒等相关通路的基因在黑暗、低光、高光下的表达差异, 研究表明, 中心代谢及光合作用相关基因在有光时期增加; 相比于黑暗时期, 藻毒素基因簇在低光与高光下都积累, 但在高光下显著增加^[34]. 证明了光照对藻类的代谢具有非常重要的影响及可见光对藻类的产毒具有促进作用. 一些研究者关注有害藻类在昼夜自然光变化下的分子机理, 为调控有害藻华的暴发提供相应的解决措施. 研究者通过 SOLiD™ 和微阵列方法研究铜绿微囊藻在转录组与蛋白组上的昼夜循环变化, 研究表明在有光时期参与糖酵解和 TCA 循环途径相关的基因较多; 在黑暗或光照情况下, 一些关键代谢途径的基因表达并没有被抑制, 说明藻类能够根据外界光度的变化来调节自身的代谢以维持生长^[35]. Straub 等通过微阵列方法对铜绿微囊藻 PCC7806 在昼夜变化下的转录组分析, 发现有超过 25% 的基因在光/暗循环中表现出显著基因差异; 在有光时期, 碳吸收、光合作用和还原戊糖磷酸途径导致糖原合成, 且合成藻毒素的 *mcyB* 和 *mcyD* 基因具有较高的表达, 而黑暗时期, 糖原降解, 表明光/暗转换对微囊藻属的新陈代谢及产毒发挥着重要作用^[36]. 因此通过分子生物学继续探究其对藻类的生长与产毒具有重要的科学和现实意义.

以上研究表明光照对藻类生长代谢具有重要的影响, 也是影响藻毒素合成的环境因子. 当有害藻在合适的环境条件下生长时, 一定强度范围的光照是有害藻生长及其毒素生成的控制因素, 已有研究表明光强度的变化能够诱导 *mcyD* 基因转录, *mcyD* 转录需要有效的光合电子转移链^[37], 但对触发 *mcy* 基因转录的光信号转导仍然不了解, 这是未来分子生物学手段研究光照对藻类生长及产毒机理的重点.

1.2 温度

有害藻类经常发生在温暖的富营养化生态系统及温带到热带的海岸河口和海洋中, 许多研究也表明, 温度是影响蓝藻生长的重要环境因子, 能影响藻细胞的酶活性及生长代谢速率^[38]. 例如, 曹洁茹等研究表明, 温度是影响球形棕囊藻生长和产毒的显著因子, 在高温下产毒能力最强^[39], 但其没有从分子生物学角度探讨藻类高温下相关产毒基因的变化情况. Deng 等通过实时定性 PCR 方法研究红色赤潮藻在不同温度下的分子响应, 研究表明红色赤潮藻在温度为 5、10、15、25、30 °C 时, 参与温度胁迫响应的 *Hsp70* 基因显著上调, 该藻暴露于低温胁迫 10 min 后就可以检测到 *Hsp70* 基因表达的增加^[40], 从分子生物学角度阐明了红色赤潮藻能在不同温度下生长. Chong 等研究南极小球藻生活在 4、20、30 °C 时的差异基因, 发现了 22 个关于光合作用、碳酸盐代谢、电子传递和维持细胞生长的差异基因, 其中参与光合作用的脱辅蛋白质基因在温度为 4 °C 时表达量提高了 3 倍^[41], 证明藻类会随温度改变其光合作用以产生更多的能量来适应生存环境的改变. 也有研究表明, 聚球藻生长在较低的温度下导致转录组水平的变化相对较小, 最显著的变化是影响脂肪酸去饱和酶基因的量, 进而影响藻类生长^[42]. El-Semary 的研究表明温度不仅影响藻类生长, 也影响藻类产毒, 在正常的生长条件下, 相比于 17 °C, 铜绿微囊藻在 25 °C 时产生的藻毒素合成基因 *mcyB* 表达较高^[43]; Scherer 等研究也表明, 相对于 20 °C 时, 铜绿微囊藻在 30 °C 时产生的藻毒素合成基因 *mcyB* 和 *mcyD* 表达量分别增高 1.72 倍和 1.33 倍^[8]. Davis 等通过测定自然水体中微囊藻毒素合成相关基因 *mcyD* 产量 (指示产毒微囊藻的细胞数量)、16sRNA 产量 (指示微囊藻总量) 以及二者比值的变化, 发现温度升高 4 °C 将使得富营养化水体中产毒微囊藻品系数量及所占的比例升高, 从而使水体中微囊藻毒素水平增加, 进而引发有害藻华的发生^[44]. 温度是影响藻类生长和产毒的关键因素, 国内外的研究表明升高温度会促进藻类生长和产毒, 而从分子生物学角度的研究也佐证了这些研究结果.

2 化学因素对藻类生长和产毒影响的分子生物学研究 (Effects of chemical factors on the algae growth and toxin production based on molecular biology)

2.1 营养盐

氮作为影响藻类生长的一个重要限制因子, 不仅是藻类生长和代谢所必需的物质, 而且是藻类体内

蛋白质、核酸等的主要构成元素之一,氮元素也是藻毒素分子结构的重要组成元素.Harke 等的研究表明,在低氮浓度下微囊藻毒素合成酶基因组的转录显著降低,每个微囊藻细胞的微囊藻毒素含量也显著降低,表明氮的浓度影响着藻毒素合成酶基因的表达,从而影响藻细胞的产毒^[45].Sevilla 等的研究却发现不同浓度的硝酸盐下,参与铜绿微囊藻的藻毒素合成基因 *mcyD* 没有发生明显变化^[46],作者认为不同浓度的硝酸盐只是影响了藻的生长和生理状态,而未影响微囊藻产毒,但其只研究了一个藻毒素合成基因的变化情况,可能不能代表藻毒素及其它产毒基因的变化情况.自然条件下,氮限制也经常影响着有害藻类的生长与产毒.Harke 等通过 Illumina® HiSeq 2000 测序技术,研究在氮饥饿后补充氮源连续实验过程中铜绿微囊藻生理与藻毒素基因表达的变化,研究表明,在氮限制下藻胆体蛋白增加、光合速率下降、藻类自动调节碳氮平衡,合成藻毒素的相关基因下调^[47].而在不同氮源限制条件下,藻类的转录组基因表达也会发生变化,Ludwig 等通过研究表明,当硝酸盐、铵盐和尿素分别作为聚球藻的限制氮源时,只有很少的基因在转录组水平上的变化超过两倍,这些差异主要是关于氮吸收和代谢的基因^[26].但 Steffen 等的研究发现,铜绿微囊藻 NIES843 在不同的氮源限制下,较多的基因具有显著的差异表达,说明了不同的氮源影响藻类的转录活性;研究同时表明,参与藻毒素合成的 10 个基因在不同氮限制下基因表达都下调^[48].不同浓度的含氮化合物和不同种类的氮源通过影响藻类生长和产毒的相关基因而影响其生长和产毒,但是目前的研究结果稍有差异,造成这些差异的主要原因是藻毒素的产生比较复杂、分析测量方法没有标准化^[49],也可能是由于实验中所使用的藻种不同、培养条件以及实地研究与实验室研究等的差异所致.

磷是藻细胞进行能量代谢及核酸、生物膜合成的重要物质,参与并调节多种代谢通路,是水体富营养化最为重要的元素.Steffen 等的研究表明,铜绿微囊藻在磷限制下,总的基因表现出较少的差异,但合成藻毒素的相关基因显著下调^[48].Ludwig 等^[26]在聚球藻中也发现,经磷限制后,表达差异明显的基因并不多.这可能是由于藻类代谢所需要的磷含量极低,磷并未直接影响藻类的生长与产毒的相关基因.但也有研究表明,在低 P 条件下藻类基因差异表达数量较多.通过诱导 *Pho* 调节子导致碱性磷酸酶 *phoX*、*Pst* 转运系统(*pstABC*)和 *sphX* 基因的转录水平大量增加而影响藻类生长;而藻毒素的含量略微下调^[45].Pimentel 等通过 PCR 技术研究磷限制下有害微囊藻藻毒素含量的变化,表明通过促进合成藻毒素相关的基因转录可使得藻毒素含量增加^[50].Teikari 等研究鱼腥藻在磷饥饿后补充高低浓度的磷源后其转录组水平的变化情况,研究发现在无磷培养 6 d 后,参与藻毒素合成的基因显著下调,而在补充低磷源的第 4 天,部分与藻毒素合成相关的基因显著上调,补充高磷源中的 *mcyF* 和 *mcyJ* 基因也显著上调^[51],该研究表明藻毒素的产生途径是复杂的,可能一些与之相关的调节发生在转录组水平以外,因此不能单一地通过定量某些基因或基因簇的 mRNA 来评估藻毒素的产生.

以上研究表明,基于分子生物学的研究方法,氮磷浓度与种类对有害藻类的生长与产毒都会有不同程度的促进或抑制作用,有学者认为,氮对藻类的生长与产毒具有明显的抑制作用^[45, 47],也有人认为,氮只影响藻类生长而不影响其产毒^[46];这可能是由于不同的藻类对氮的吸收利用方式不同,导致氮对于藻类毒素产生的影响会有不同程度的促进或抑制作用,从而使基因表达差异较大;对于磷的研究,有学者表明磷对藻类的生长没有明显的影响^[26, 45],但磷被耗尽后补充适当的量会刺激藻毒素产量增加^[51],这可能是由于磷并未直接影响藻类的生长及藻毒素的合成,而是影响藻类 ATP 的转化来调节藻毒素的合成.氮、磷营养盐对于藻类的综合影响还没有统一的结论,而从分子生物学研究其机理的相关研究依旧很少,值得进一步更深入研究氮磷因子对有害藻华产生机理.

2.2 微量元素

对于大部分藻类,金属稳态是至关重要的细胞功能,然而随着人类社会与工业的发展,使得微量元素及其化合物大量进入水和土壤中,必然对水生生态系统的稳定产生潜在的影响.微量元素如铁、锌、锰等是浮游藻类增殖的必需元素,他们作为酶的辅助因子和金属蛋白是必不可少的.但一些研究表明,过量的某些微量元素也会造成藻类大量繁殖^[52],因此,微量元素对藻类生长与产毒的机理值得关注.已有研究证明铁限制会促使铜绿微囊藻细胞调整光合系统的能量分配,使光合效率 F_v/F_m 明显降低,影响其生长^[53],但未考虑通过分子手段进行研究与分析.Hernandezprieto 等通过微阵列方法监控在铁不足的情况下,研究参与集胞藻的生长代谢通路、非编码 RNA 及生长调控机理的表达谱^[54].研究表明,在无铁

的 72 h 内,有五分之一蛋白编码基因差异表达,这些基因中多数是与铁转运、光合作用和 ATP 合成等与生长代谢相关的通路.Ludwig 等的研究同样表明,聚球藻 A1649 在铁限制下有一定的与铁吸收或生长代谢相关的编码酶/蛋白基因差异表达^[55],说明铁含量影响藻类的生长代谢.同时一些研究者也证明铁含量会影响有害藻类的产毒.Emma 等通过实时荧光定量 PCR 方法研究表明铜绿微囊藻在铁不足时,藻毒素与合成藻毒素相关的 *mcyD* 基因略微增加^[56];这与 Da 等^[57] 研究结果相一致,表明铁含量不仅影响藻类的生长也影响其产毒.目前,从分子生物学研究微量元素对有害藻类生长与产毒的文章并不多见,但微量元素作为藻类正常生理功能不可缺少的一部分对其未来的研究是不可忽视的.

基于以上研究分析及参考 Wurch^[58] 与 Beversdorf^[59] 等的研究,可总结出不同营养盐参与调节藻毒素生物合成的代谢通路,如图 2 所示.图 2 详细展示了不同氮源对藻毒素合成影响的途径,铵盐能够直接被藻类吸收,参与其正常的氮代谢途径,而硝酸盐与亚硝酸盐需要先转化为铵离子,才能成为藻类合成蛋白质的原料^[25],同时尿素被脲酶降解为铵离子后再参与氮循环^[60-61],总体来说,所有的氮源都要转化为铵盐后才能参与氮代谢途径进而影响藻毒素的产生;磷进入藻细胞后经过了一些复杂的变化,其浓度与种类最终会通过影响有害藻类的 ATP 的转化来调节藻毒素的合成^[62];铁离子进入藻细胞后通过影响氮代谢调控转录因子 *NtcA* 的含量参与藻毒素的合成.更多环境因子对藻毒素合成的影响途径还需要进一步的研究.

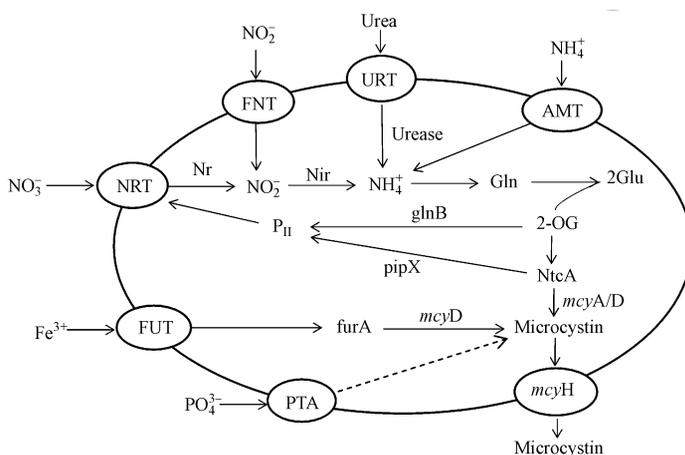


图 2 参与调节藻毒素生物合成的代谢通路

Fig.2 Metabolic pathways potentially involved in the regulation of microcystin biosynthesis

3 其他污染物对藻类生长和产毒影响的分子生物学研究 (Effects of other contaminants on the growth and toxin production based on molecular biology)

大多数外来污染物已被证明会引起急性或慢性伤害并影响生物生长,这些影响会破坏藻类细胞结构和基因转录,导致藻类生理和生化反应受到干扰^[63].Qian 等通过实时荧光定量 PCR 技术研究铜绿微囊藻在氨苄青霉素、阿特拉津、氯化铬等 3 种环境污染物中的分子响应,随着时间的增加,暴露在 3 种环境污染物下,藻毒素含量显著减少,参与藻毒素合成的相关基因表达也减少^[64].微囊藻暴露在不同浓度的螺旋霉素与阿莫西林中,合成藻毒素的基因 *mcyB* 及藻毒素含量也减少^[65].藻毒素的减少,可能是由于这些环境污染物抑制了藻类 N/P 的吸收和相关基因的转录,使维持藻类生长的叶绿素含量与提供能量的 ATP 含量下降,进而影响了藻类的生长及产毒.同时,也有研究表明一些水生植物产生的化感物质会影响藻类的生长与产毒,将铜绿微囊藻暴露在壬酸、N-苯基-1-萘胺和咖啡酸等不同的化感物质下,均能不同程度抑制铜绿微囊藻的生长^[66],Shao 等的研究表明,在高浓度邻苯三酚 ($4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的刺激下铜绿微囊藻中藻毒素基因 *mcyB* 显著表达,而在低浓度下 ($1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 表达较低^[67];但 Lu 等的研究发现,微囊藻生长在不同浓度的表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 下,参与藻毒素合成的基因 *mcyB* 没有显著变化^[32],这可能是由于该物质对藻类的毒害和藻类降解该物质两个过程同时存在,在浓度较低时降解过程占主导地位,因而在整体上表现为降解,降解产物可作为促进藻类生长的营养源^[68],并不会影响藻

类的产毒。一些残留或过量的抑藻剂也会影响藻类的生长与产毒,Guo 等通过 Illumina[®] TruSeq[™] 和实时 PCR 检测法研究抑藻剂 CuSO₄ 诱导下有害鞭毛藻的分子机理,结果显示在 CuSO₄ 诱导下,参与藻类光合系统的基因差异表达,光合作用机制受到严重影响,基因翻译和转录过程也被破坏,从而抑制细胞生长和增殖,可能进一步加速细胞死亡^[15]。Qian 的研究结果与 Guo 相似,同时还得出藻毒素的基因 *mcyA* 在 CuSO₄ 和 H₂O₂ 的刺激下表达量增加,*mcyD* 的表达量减少,可能是由于这两个基因属于两个操纵子并且具有双向启动子所致^[69],藻类的信号传导途径受多种基因调控,通过转录组研究可以更好地解释其复杂性及有害藻华的产生过程。

从以上研究结果可知,实际水体与实验室的研究是存在差异的,而目前的研究多集中在实验室条件下有机物对不同藻类的单一效应,并不能完全代表实际水体的响应,建议将实地研究与实验室研究进行适度结合,并且应重视多种污染物对藻类生长和产毒的协同效应。

4 结果与展望 (Results and outlook)

综上所述,影响有害藻类生长与产毒的环境影响因子众多,但其对有害藻的生长与产毒机理仍然不是十分明确,PCR 技术与转录组水平技术的普及推进了从分子机理上研究有害藻华和毒素的产生。从分子生物学上研究不同氮磷限制、氮磷浓度对藻类的生长和产毒情况较多,但是研究氮磷饥饿培养后及饥饿后再投入氮磷对藻类生长和产毒的影响相对较少。因此,进一步研究氮磷对有害藻生长和产毒的分子响应值得关注。同时,藻的生理变化是一个复杂的过程,它受到很多环境因素的综合作用。而在自然状态下,多种微量元素及其他污染物可同时存在于水生生态系统中,这些物质共存于水体对藻类生长和产毒产生的效应是非常复杂的,与单一因素作用下的结果有很大的差异。因此,为了更了解实际的水环境,对多个环境因子的联合效应有待进一步深究。随着有害藻分子生物学研究的不断深入,不仅将进一步丰富藻类基因库信息,而且可以从多个环境因素下研究藻类生长和产毒的分子生物学方面的变化,有助于从本质上了解有害藻华产生的原因与机理,为防治有害藻华提供有效手段。

参考文献 (References)

- [1] DAI R H, LIU H J, QU J H. The effects of different nitrogen compounds on the growth and microcystin production of *Microcystis aeruginosa* [J]. Journal of Water Supply Research and Technology-Aqua, 2009, 58(4): 277-284.
- [2] CARMICHAEL W W. Health effects of toxin-producing cyanobacteria: "The CyanoHABs" [J]. Human and Ecological Risk Assessment, 2012, 7(5): 1393-1407.
- [3] VEZIE C, RAPALA J, VAITOMAA J, et al. Effect of nitrogen and phosphorus on growth of toxic and nontoxic *Microcystis* strains and on intracellular microcystin concentrations [J]. Microbial Ecology, 2002, 43(4): 443-454.
- [4] PAERL H W, OTTEN T G. Harmful cyanobacterial blooms: Causes, consequences, and controls [J]. Microbial Ecology, 2013, 65(4): 995-1010.
- [5] 江林燕, 江成, 周伟, 等. 水体扰动对铜绿微囊藻生长影响的规律及原因 [J]. 环境化学, 2012, 31(2): 216-220.
JIANG L Y, JIANG C, ZHOU W, et al. Growth of *Microcystis aeruginosa* under different disturbance [J]. Environmental Chemistry, 2012, 31(2): 216-220 (in Chinese).
- [6] WATANABE M F, OISHI S. Effects of environmental factors on toxicity of a cyanobacterium (*Microcystis aeruginosa*) under culture conditions [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1985, 49(5): 1342-1344.
- [7] WIEDNER C, VISSER P M, FASTNER J, et al. Effects of light on the microcystin content of *Microcystis* Strain PCC 7806 [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(3): 1475-1481.
- [8] SCHERER P I, RAEDER U, GEIST J, et al. Influence of temperature, mixing, and addition of microcystin-LR on microcystin gene expression in *Microcystis aeruginosa* [J]. Microbiology Open, 2017, 6(1): 393-403.
- [9] LONG B M, JONES G J, ORR P T. Cellular microcystin content in N-limited *Microcystis aeruginosa* can be predicted from growth rate [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(1): 278-283.
- [10] DESCHOENMAEKER F, BAYON-VICENTE G, SACHDEVA N, et al. Impact of different nitrogen sources on the growth of *Arthrospira* sp. PCC 8005 under batch and continuous cultivation A biochemical, transcriptomic and proteomic profile [J]. Bioresource Technology, 2017, 237: 78-88.
- [11] UTKILEN H, GJOLME N. Iron-stimulated toxin production in *Microcystis aeruginosa* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(2): 797-800.
- [12] LUKAC M, AEGERTER R. Influence of trace metals on growth and toxin production of *Microcystis aeruginosa* [J]. Toxicon, 1993, 31(3): 293-305.
- [13] HARRASS M C, KINDIG A C, TAUB F B. Responses of blue-green and green algae to streptomycin in unialgal and paired culture [J]. Aquatic Toxicology, 1985, 6(1): 1-11.
- [14] 沈宏, 周培疆. 环境有机污染物对藻类生长作用的研究进展 [J]. 水生生物学报, 2002, 26(5): 529-535.

- SHEN H, ZHOU P J. Advance in the studies on effect of environmental organic pollutants on the algae growth[J]. Acta Aydrobiologica Sinica, 2002, 26(5): 529-535(in Chinese).
- [15] GUO R, WANG H, SUH Y S, et al. Transcriptomic profiles reveal the genome-wide responses of the harmful *dinoflagellate Cochlodinium polykrikoides* when exposed to the algicide copper sulfate[J]. Bmc Genomics, 2016, 17(1): 29-45.
- [16] 赖晓娟, 陈海敏, 杨锐, 等. 藻类基因组研究进展[J]. 遗传, 2013, 35(6): 735-744.
- [17] LAI X J, CHEN H M, YANG R, et al. Advances on the genome of algae[J]. Hereditas, 2013, 35(6): 735-744(in Chinese).
- [18] EHRENREICH I M, WATERBURY J B, WEBB E A. Distribution and diversity of natural product genes in marine and freshwater cyanobacterial cultures and genomes[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(11): 7401-7413.
- [19] VILACOSTA M, SHARMA S, MORAN M A, et al. Diel gene expression profiles of a phosphorus limited mountain lake using metatranscriptomics[J]. Environmental Microbiology, 2013, 15(4): 1190-1203.
- [20] PENN K, WANG J, FERNANDO S C, et al. Secondary metabolite gene expression and interplay of bacterial functions in a tropical freshwater cyanobacterial bloom[J]. Isme Journal, 2014, 8(9): 1866-1878.
- [21] TOEPEL J, WELSH E, SUMMERFIELD T C, et al. Differential transcriptional analysis of the cyanobacterium *Cyanothece* sp. Strain ATCC 51142 during light-dark and continuous-light growth[J]. Journal of Bacteriology, 2008, 190(11): 3904-3913.
- [22] FRISCHKORN K R, HARKE M J, GOBLER C J, et al. De novo assembly of *Aureococcus anophagefferens* transcriptomes reveals diverse responses to the low nutrient and low light conditions present during blooms[J]. Frontiers in Microbiology, 2014, 5: 375-391.
- [23] BUKOWSKA A, KALIŃSKI T, KOPER M, et al. Predicting blooms of toxic cyanobacteria in eutrophic lakes with diverse cyanobacterial communities[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 8342-8354.
- [24] SRIVASTAVA A, CHOI G, AHN C, et al. Dynamics of microcystin production and quantification of potentially toxigenic *Microcystis* sp. using real-time PCR[J]. Water Research, 2012, 46(3): 817-827.
- [25] ZHU W, ZHOU X, CHEN H, et al. High nutrient concentration and temperature alleviated formation of large colonies of *Microcystis*: Evidence from field investigations and laboratory experiments[J]. Water Research, 2016, 101: 167-175.
- [26] LIU Z, KOID A E, TERRADO R, et al. Changes in gene expression of *Prymnesium parvum* induced by nitrogen and phosphorus limitation [J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6: 631-644.
- [27] LUDWIG M, BRYANT D A. Acclimation of the global transcriptome of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. Strain PCC 7002 to nutrient limitations and different nitrogen sources[J]. Frontiers in Microbiology, 2012, 3: 145-160.
- [28] COOPER J T, SINCLAIR G A, WAWRIK B. Transcriptome analysis of *Scripsiella trochoidea* CCMP 3099 reveals physiological changes related to nitrate depletion[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 639-658.
- [29] HARKE M J, JUHL A R, HALEY S T, et al. Conserved transcriptional responses to nutrient stress in bloom-forming algae[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1279-1297.
- [30] ALEXOVA R, FUJII M, BIRCH D, et al. Iron uptake and toxin synthesis in the bloom-forming *Microcystis aeruginosa* under iron limitation [J]. Environmental Microbiology, 2011, 13(4): 1064-1077.
- [31] ALEXOVA R, DANG T C, FUJII M, et al. Specific global responses to N and Fe nutrition in toxic and non-toxic *Microcystis aeruginosa* [J]. Environmental Microbiology, 2016, 18(2): 401-413.
- [32] LIU Y, CHEN X, ZHANG J, et al. Hormesis effects of amoxicillin on growth and cellular biosynthesis of *Microcystis aeruginosa* at different nitrogen levels[J]. Microbial Ecology, 2015, 69(3): 608-617.
- [33] LU Y, WANG J, YU Y, et al. Changes in the physiology and gene expression of *Microcystis aeruginosa* under EGCG stress [J]. Chemosphere, 2014, 117: 164-169.
- [34] KAEBERNICK M, NEILLAN B A, BORNER T, et al. Light and the transcriptional response of the microcystin biosynthesis gene cluste[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(8): 3387-3392.
- [35] MAKOWER A K, SCHUURMANS J M, GROTH D, et al. Transcriptomics-aided dissection of the intracellular and extracellular roles of microcystin in *Microcystis aeruginosa* PCC 7806[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2015, 81(2): 544-554.
- [36] WELKIE D G, ZHANG X, MARKILLIE M L, et al. Transcriptomic and proteomic dynamics in the metabolism of a diazotrophic cyanobacterium, *Cyanothece* sp. PCC 7822 during a diurnal light-dark cycle[J]. Bmc Genomics, 2014, 15(1): 1185-1201.
- [37] STRAUB C, QUILLARDET P, VERGALLI J, et al. A day in the life of *Microcystis aeruginosa* strain PCC 7806 as revealed by a transcriptomic analysis[J]. PLoS One, 2011, 6(1): 16208-16220.
- [38] SEVILLA E, MARTIN-LUNA B, BES M T, et al. An active photosynthetic electron transfer chain required for *mcyD* transcription and microcystin synthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC7806[J]. Ecotoxicology, 2012, 21(3): 811-819.
- [39] WINCKELMANN D, BLEEKE F, BERGMANN P, et al. Growth of *Cyanobacterium aponinum* influenced by increasing salt concentrations and temperature[J]. Biotech, 2015, 5(3): 253-260.
- [40] 曹洁茹, 桓清柳, 吴霓, 等. 光照、温度和氮磷限制对 6 种典型鱼毒性藻类生长及产毒的影响[J]. 海洋环境科学, 2015, 34(3): 321-329.
- CAO J R, HUAN Q L, WU N, et al. Effects of temperature, light intensity and nutrient condition on the growth and hemolytic activity of six species of typical ichthyotoxic algae[J]. Marine Environmental Science, 2015, 34(3): 321-329(in Chinese).
- [41] DENG Y, HU Z, ZHAN Z, et al. Differential expressions of an *Hsp70* gene in the *dinoflagellate Akashiwo sanguinea* in response to temperature stress and transition of life cycle and its implications[J]. Harmful Algae, 2015, 50: 57-64.
- [42] CHONG G L, CHU W L, OTHMAN R Y, et al. Differential gene expression of an Antarctic *Chlorella* in response to temperature stress[J]. Polar Biology, 2011, 34(5): 637-645.
- [43] LUDWIG M. *Synechococcus* sp. strain PCC 7002 transcriptome: acclimation to temperature, salinity, oxidative stress, and mixotrophic growth conditions[J]. Frontiers in Microbiology, 2012, 3: 354-368.
- [44] EL SEMARY N A. Investigating factors affecting growth and cellular *mcyB* transcripts of *Microcystis aeruginosa* PCC 7806 using real-time PCR[J]. Annals of Microbiology, 2010, 60(2): 181-188.

- [44] DAVIS T W, BERRY D L, BOYER G L, et al. The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms[J]. *Harmful Algae*, 2009, 8(5): 715-725.
- [45] HARKE M J, GOBLER C J. Global transcriptional responses of the toxic cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*, to nitrogen stress, phosphorus stress, and growth on organic matter[J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): 69834-69849.
- [46] SEVILLA E, MARTIN-LUNA B, VELA L, et al. Microcystin-LR synthesis as response to nitrogen: transcriptional analysis of the *mcyD* gene in *Microcystis aeruginosa* PCC7806[J]. *Ecotoxicology*, 2010, 19(7): 1167-1173.
- [47] HARKE M J, GOBLER C J. Daily transcriptome changes reveal the role of nitrogen in controlling microcystin synthesis and nutrient transport in the toxic cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*[J]. *Bmc Genomics*, 2015, 16(1): 1068-1086.
- [48] STEFFEN M M, DEARTH S P, DILL B D, et al. Nutrients drive transcriptional changes that maintain metabolic homeostasis but alter genome architecture in *Microcystis*[J]. *The ISME Journal*, 2014, 8(10): 2080-2092.
- [49] NEILAN B A, PEARSON L A, MUENCHHOFF J, et al. Environmental conditions that influence toxin biosynthesis in cyanobacteria[J]. *Environmental Microbiology*, 2013, 15(5): 1239-1253.
- [50] PIMENTEL J D S M, GIANI A. Microcystin production and regulation under nutrient stress conditions in toxic *Microcystis* strains[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(18): 5836-5843.
- [51] TEIKARI J, OSTERHOLM J, KOPF M, et al. Transcriptomic and proteomic profiling of *Anabaena* sp. strain 90 under inorganic phosphorus stress[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(15): 5212-5222.
- [52] 雷振, 陈荣, 薛涛, 等. 微量元素铜钼对铜绿微囊藻生长的影响[J]. *环境科学与技术*, 2016, 39(5): 42-46.
- [52] LEI Z, CHEN R, XUE T, et al. Effects of copper and molybdenum on the growth of *Microcystis aeruginosa*[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 39(5): 42-46 (in Chinese).
- [53] 欧明明, 蔡伟民. 铁限制对铜绿微囊藻光系统活性变化的影响[J]. *环境化学*, 2005, 24(6): 651-653.
- [53] OU M M, CAI W M. The effects of iron limitation on the changes of fluorescence spectra at 77k in *Microcystis aeruginosa* [J]. *Environmental Chemistry*, 2005, 24(6): 651-653 (in Chinese).
- [54] HERNANDEZPRIETO M A, SCHON V, GEORG J, et al. Iron deprivation in *Synechocystis*: Inference of pathways, non-coding RNAs, and regulatory elements from comprehensive expression profiling[J]. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 2012, 2(12): 1475-1495.
- [55] LUDWIG M, CHUA T T, CHEW C Y, et al. Fur-type transcriptional repressors and metal homeostasis in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7002[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6(488): 1217-1230.
- [56] EMMA S, BEATRIZ M L, LAURA V, et al. Iron availability affects *mcyD* expression and microcystin-LR synthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC7806[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(10): 2476-2483.
- [57] DA P, PIMENTEL J, BIRD D, et al. Changes in oligopeptide production by toxic cyanobacterial strains under iron deficiency[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2015, 74(3): 205-214.
- [58] WURCH L L, HALEY S T, ORCHARD E D, et al. Nutrient-regulated transcriptional responses in the brown tide-forming alga *Aureococcus anophagefferens*[J]. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(2): 468-481.
- [59] BEVERSDORF L J, MILLER T R, MCMAHON K D. Long-term monitoring reveals carbon and nitrogen metabolism key to microcystin production in eutrophic lakes[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 456-468.
- [60] WU X, YAN Y, WANG P, et al. Effect of urea on growth and microcystins production of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 181: 72-77.
- [61] SOLOMON C M, COLLIER J L, BERG G M, et al. Role of urea in microbial metabolism in aquatic systems: A biochemical and molecular review[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2010, 59: 67-88.
- [62] DAI R H, LIU H J, QU J H, et al. Relationship of energy charge and toxin content of *Microcystis aeruginosa* in nitrogen-limited or phosphorous-limited cultures[J]. *Toxicon*, 2008, 51(4): 649-658.
- [63] LIU Y, ZHANG J, GAO B, et al. Combined effects of two antibiotic contaminants on *Microcystis aeruginosa* [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 279: 148-155.
- [64] QIAN H, PAN X, CHEN J. Analyses of gene expression and physiological changes in *Microcystis aeruginosa* reveal the phytotoxicities of three environmental pollutants[J]. *Ecotoxicology*, 2012, 21(3): 847-859.
- [65] LIU Y, ZHANG J, GAO B. Cellular and transcriptional responses in *Microcystis aeruginosa* exposed to two antibiotic contaminants [J]. *Microbial Ecology*, 2015, 69(3): 535-543.
- [66] 高云霓, 葛芳杰, 刘碧云, 等. 不同暴露方式下水生植物化感物质抑藻效应的比较研究 [J]. *生态环境学报*, 2015, 24(4): 554-560.
- [66] GAO Y N, GE F J, LIU B Y, et al. Comparative study on antialgal effects of allelochemicals from aquatic plants under different exposure protocols[J]. *Ecology and Environment Sciences*, 2015, 24(4): 554-560 (in Chinese).
- [67] SHAO J, WU Z, YU G, et al. Allelopathic mechanism of pyrogallol to *Microcystis aeruginosa* PCC7806 (Cyanobacteria): From views of gene expression and antioxidant system[J]. *Chemosphere*, 2009, 75(7): 924-928.
- [68] LIPING W, HONGXIA Y, YUE S, et al. The effects of three sulfonyleurea herbicides and their degradation products on the green algae *Chlorella pyrenoidosa*[J]. *Chemosphere*, 1998, 37(4): 747-751.
- [69] QIAN H, YU S, SUN Z, et al. Effects of copper sulfate, hydrogen peroxide and N-phenyl-2-naphthylamine on oxidative stress and the expression of genes involved photosynthesis and microcystin disposition in *Microcystis aeruginosa* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2010, 99(3): 405-412.