

韩耀全, 黄 励, 施 军, 等. 常用水体初级生产力测定方法的结果差异分析[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(1): 201–206.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.01.053

常用水体初级生产力测定方法的结果差异分析

韩耀全¹, 黄 励², 施 军¹, 吴伟军¹, 雷建军¹

(1. 广西水产科学研究院/广西水产遗传育种与健康养殖重点实验室, 广西南宁 530021; 2. 广西国际商务职业技术学院, 广西南宁 530007)

摘要:分析常用水体初级生产力测定方法所得结果之间的差异及原因, 提高测定结果的可靠性, 为基于水体初级生产力测定结果的科研及渔业生产实践提供参考依据。2014 年 7 月、10 月分别在同一水域, 通过浮游植物生物量法、黑白瓶法、叶绿素 a 法同步测定水体初级生产力, 将测定结果统一在 C(碳)单位水平进行比较, 结合分析其他不同营养水平水体初级生产力测定结果的差异。分析结果, 水域为贫营养型水体, 3 种方法的测定结果均以叶绿素法测定结果最高, 浮游植物生物量法次之, 黑白瓶法最低。叶绿素法的测定结果平均比浮游植物生物量法高 42.81%, 比黑白瓶法高 173.75%, 浮游植物生物量法测定结果平均比黑白瓶法高 91.68%。收集到的其他 6 种营养类型水域测得的水体初级生产力结果表现出与本研究相似的趋势, 叶绿素法测定结果平均比浮游植物生物量法高 40.28%, 比黑白瓶法高 171.38%, 叶绿素法与黑白瓶法的初级生产力测定结果之比相近。影响水体初级生产力的因素复杂, 为避免测定结果误差过大, 可通过同步开展多种方法测定、重复测定、增加不同季节和不同环境条件下的测定, 综合多种因素来选取合理值。

关键词:叶绿素 a 法; 黑白瓶法; 生物量法; 初级生产力; 差异

中图分类号: X824; X826 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)01-0201-05

初级生产力是指初级生产者在单位时间内生产有机物的能力^[1]。水体初级生产者主要由水生植物、着生藻类、浮游植物和自养细菌等构成^[1-4], 由于水体初级生产力可以反映水域的营养水平及鱼产潜力, 在水环境保护、渔业养殖开发、增殖放流生产与科研实践中, 可以根据水体初级生产力判断水域的环境状况及估算水域潜在鱼产力从而确定投放鱼类的品种及数量^[2-14], 无论是对水域生态系统特征的研究, 还是在指导渔业生产与科研实践上都有重要意义^[4,15]。20 世纪初的水体初级生产力研究至今已通过多种手段分析初级生产力水平及结构特征^[1,2,15], 目前, 水体初级生产力主要测定方法包括浮游植物生物量法、黑白瓶测定法、叶绿素测定法、放射性同位素测定法及 pH 值测定法等, 我国调查者更多采用前 3 种评估方法^[2,6,15-20]。目前, 对水体初级生产力的调查分析需求很多, 由于操作简单等原因, 便携式叶绿素测定仪已经在大量的生产和科研工作中使用。由于水域初级生产过程复杂, 不同初级生产力测定方法各有优缺点, 理论上都无法完全准确反映初级生产力水平^[4,15,21], 测定结果不仅受测定方法本身局限的影响, 也受到环境因子等外界因素影响, 导致相同水域不同测定方法及不同水域相同测定方法所得初级生产力结果可能存在差异或误差^[15-16,18,22-25]。水域初级生产力的研究成果很多, 但绝大多数水体初级生产力的测定分析仅仅是基于某 1 种测定方法的结果, 而且大多分析仅进行 1 次

测定^[2,5-7,13-14,17,20-23,25-39], 其结果的准确性值得商榷。在同一水域同时通过 2 种以上方法测定初级生产力的报道较少, 而且大多测定结果仅是用于探讨水域营养水平和估算鱼产力^[5-6,9-14,31,40], 较少有对同一水域同时按不同方法测定结果之间的差异进行分析^[2-3,16,17,26,34,40-43], 或者仅从理论层面分析其误差的可能性, 没有实测数据支撑^[15,18-19,22,44]。本研究在泗维水库 2 个不同季节 2 次通过浮游植物生物量法、黑白瓶法、叶绿素 a 法 3 种方法同步测定水体初级生产力, 将测定结果统一在 C(碳)单位水平进行比较, 并类比其他不同营养类型水域初级生产力研究结果, 分析不同测定方法间的结果差异及形成原因, 为基于水体初级生产力的生产与科研实践提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 测定方法

2014 年 7 月 4 日至 7 月 5 日, 2014 年 10 月 3 日至 10 月 4 日分别在广西柳州市泗维水库上游(109°21'24.3"E、25°19'33.2"N)、中游(109°23'07.1"E、25°19'52.9"N)、下游坝首(109°24'29.4"E、25°20'55.7"N) 3 个采样站点同步通过浮游植物生物量法、黑白瓶法、叶绿素法测定水体初级生产力。

1.1.1 浮游植物生物量测定法 在每个采样点用 2 500 mL 有机玻璃采水器取表层、中层、下层水样, 混合后取 1 000 mL 用鲁哥氏液固定, 室内沉淀 48 h 后浓缩至 30 mL, 摇匀后吸取 0.1 mL 样品置于 0.1 mL 计数框内, 在显微镜下按视野法计数并鉴定种类, 数量特别少时全片计数, 每个样品计数 2 次, 取其平均值, 每次计数结果与平均值之差应在 15% 以内, 否则增加计数次数。最后根据数量及种类计算生物量^[2,43,45-52]。

1.1.2 叶绿素测定法 在采集浮游植物定量样品的同时, 记

收稿日期: 2016-08-15

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(编号: 201303048); 广西自然科学基金重大项目(编号: 2013GXNSFEA053003)。

作者简介: 韩耀全(1969—), 男, 广西南宁人, 高级工程师、注册咨询师, 主要从事水生生物自然资源及水生生态调查、保护与修复工作。E-mail: hyqao@sohu.com。

录水温、透明度等指标。每个采样点采集表层、中层、下层水样各 2 500 mL,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,用 90% 丙酮萃取,在分光光度计上测定 750、663、645、630 nm 处吸光度 D ,根据公式 $\text{Chl} - a = 11.64D_{663} - 2.16D_{645} + 0.10D_{630}$ 、 $\text{Chl} - b = -3.94D_{663} + 20.97D_{645} - 3.66D_{630}$ 、 $\text{Chl} - c = -5.53D_{663} - 14.81D_{645} + 54.22D_{630}$ 计算叶绿素浓度^[25,43,45,52]。

1.1.3 黑白瓶测定法 在采集浮游植物定量样品的同时,采用黑白瓶法测定初级生产力。每个采样点挂 3 层,每层 3 瓶,挂瓶水深为 0.5、1.5、3.0 m,悬挂时间 24 h。在测定开始装水灌瓶时即用硫酸锰溶液和碱性碘化钾溶液固定初始溶解氧瓶。曝光结束后立即用同量的固定液固定黑、白瓶溶解氧瓶。按 GB/T 7489 规定测定黑白瓶溶氧量,再根据各瓶的溶氧量推算初级生产力^[3,43,45,52]。

1.2 计量单位换算

由于浮游植物生物量法、黑白瓶法、叶绿素 a 法 3 种测定方法的测定结果使用单位不同,3 种测定结果无法直接在数值上进行比较。叶绿素的测定结果常用单位为 μg/L,浮游植物生物量的测定结果常用单位为 mg/L,黑白瓶法的测定结果常用单位为 g O₂/(m²·d)。为了便于比较,本研究将 3 种方法的测定结果统一换算为以 C(碳)单位计,换算后的单位统一为 mg C/(m³·d)。

1.2.1 浮游植物生物量初级生产力换算 浮游植物生物量测定结果的单位为 mg/L,按 1 mg O₂ = 0.30 mg C = 6.1 mg 浮游植物鲜质量的换算关系^[45],日照时数按 12 h/d 计^[26,45],将测得的浮游植物生物量结果转换为以 C 单位计,单位为 mg C/(m³·d)。

1.2.2 黑白瓶法日产氧量初级生产力换算 黑白瓶法测定结果的单位为 g O₂/(m²·d),根据 1 mg O₂ = 0.3 mg C 的换算关系,将测得的黑白瓶产氧量转换为以 C 单位计,单位为 mg C/(m³·d)^[45]。

1.2.3 叶绿素 a 初级生产力换算 叶绿素 a 测定结果的单位为 μg/L,按照 Cadee(1975)公式转换为以 C 单位计,单位为 mg C/(m³·d)。计算公式为: $C_{\text{chl-a}} = (P_s \cdot E \cdot D)/2$,式中: $C_{\text{chl-a}}$ 为以 C 单位计初级生产力,单位 mg C/(m³·d); P_s 为表层水中浮游植物的潜在生产力,以 C 计,单位

mg C/(m³·h); E 为真光层深度,单位 m; D 为每天日照时间,单位 h。其中,表层水(1 m 以内)中浮游植物的潜在生产力 P_s 根据表层水中叶绿素 a 的含量计算,公式为: $P_s = C_a \cdot Q$,式中: C_a 为表层水中叶绿素 a 的含量,单位 mg/m³; Q 为同化系数,以 C 计,单位 mg C/(mg C_a ·h);同化系数取国内外学者通常引用的经验值 3.7 mg C/(mg C_a ·h)^[18,25];真光层深度 E 取透明度的 3 倍,日照时间按 12 h/d 计^[25-26,45,48]。

1.3 水体营养类型划分

水体营养类型可以采用化学、物理或生物等不同指标及不同层次进行划分,以浮游植物生物量划分:<1 mg/L 为贫营养型,1~5 mg/L 为中营养型,>5 mg/L 为富营养型^[49];黑白瓶产氧量:<1 g O₂/(m²·d)为贫营养型,1~3 g O₂/(m²·d)为中营养型,>3~7 g O₂/(m²·d)为富营养型,>7 g O₂/(m²·d)为高富营养型^[2,33,50-51];叶绿素 a:<4 μg/L 为贫营养型,4~10 μg/L 为中营养型,>10~50 μg/L 为富营养型,>50 μg/L 为高富营养型^[26,45]。

1.4 其他水域初级生产力研究数据

搜集不同营养型水体同时利用 2 种以上测定方法研究水体初级生产力的成果与本研究类比。

2 结果与分析

2.1 初级生产力测定结果

本研究水域共检出浮游植物 69 属,其中绿藻 35 属,硅藻 15 属,蓝藻 5 属,裸藻 4 属,甲藻 4 属,金藻 4 属,黄藻 2 属,以硅藻属、甲藻属和绿藻属的生物量占比较高。通过 3 种方法测定的泗洲河水库初级生产力结果见表 1,统一换算为以 C 单位计后的初级生产力结果见表 2、图 1。测定结果,研究水域浮游植物平均生物量 0.421 4 mg/L,叶绿素 a 平均值 2.026 4 μg/L,黑白瓶法平均产氧量 0.432 5 g O₂/(m²·d)。根据水体营养划分标准,数值全部处于贫营养型水体范围内。换算成统一计量单位后,以叶绿素 a 计算的平均初级生产力为 355.19 mg C/(m³·d),以浮游植物生物量计算的初级生产为 248.71 mg C/(m³·d),以黑白瓶产氧量计算的平均初级生产力为 129.75 mg C/(m³·d)。

表 1 不同方法测得的水体初级生产力结果

月份	站位	叶绿素 a 法 (μg/L)	黑白瓶法 [g O ₂ /(m ² ·d)]	生物量法 (mg/L)	透明度 (cm)	水温 (℃)	pH 值
7	上游	1.194 6	0.268	0.282 1	310	29.0	6.4
7	中游	0.879 5	0.512	0.431 4	420	28.4	6.3
7	下游	1.781 1	0.504	0.356 1	500	29.0	6.2
10	上游	2.828 1	0.274	0.516 6	120	26.5	7.7
10	中游	2.706 2	0.523	0.433 6	250	22.5	7.6
10	下游	2.768 6	0.514	0.508 7	200	22.0	7.5
平均值		2.026 4	0.432 5	0.421 4	300	26.2	7.0

2.2 3 种测定方法结果的差异

分析表 2 结果,研究水域通过 3 种测定方法测得的 6 组初级生产力结果中,每组数据均以叶绿素 a 法测定的结果最高,浮游植物生物量法次之,黑白瓶法测定结果最低。7 月的测定结果,叶绿素法测定结果比浮游植物生物量法高 75.66%,比黑白瓶法高 186.40%,浮游植物生物量法测定结

果又比黑白瓶法高 70.61%;10 月的测定结果,叶绿素法测定结果比浮游植物生物量法高 24.35%,比黑白瓶法高 167.10%,浮游植物生物量法测定结果又比黑白瓶法高 142.90%;2 次测定结果平均,叶绿素法测定结果比浮游植物生物量法高 42.81%,比黑白瓶法高 173.75%,浮游植物生物量法测定结果比黑白瓶法高 91.68%。若以黑白瓶法测定

表 2 统一单位后不同方法的初级生产力测定结果

月份	站位	初级生产力[$\text{mg C}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$]		
		叶绿素 a 法	黑白瓶法	生物量法
7	上游	246.64	80.40	166.49
7	中游	246.01	153.60	254.60
7	下游	593.11	151.20	210.16
10	上游	226.02	82.20	304.88
10	中游	450.58	156.90	255.90
10	下游	368.78	154.20	300.22
平均值		355.19	129.75	248.71

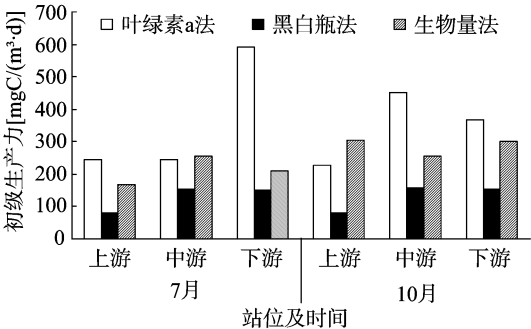


图1 泗维水库 3 种方法测得的水体初级生产力结果

表 3 不同水域初级生产力测定结果

研究水域地点	叶绿素 a 法 ($\mu\text{g/L}$)	黑白瓶法 [$\text{g O}_2/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$]	生物量法 (mg/L)	透明度 (cm)	研究时间 (年)	资料来源
广西澄碧湖	3.1117	0.291	0.670 6	240	1983	[46]
长江天鹅洲故道		1.360	1.890 0		1995	[5]
广西澄碧湖	7.7320	1.272	0.878 2	180	1983	[46]
辽宁柴河水库		1.690	4.850 0	95	1987	[17]
福建峰头水库		2.660	3.790 0		1990	[6]
江苏太湖	14.640 0	1.515		36	2005	[4]
河北浮桥水库	15.450 0	2.750		140	2005	[33]
长春南湖	43.000 0	2.830		58	2005	[41,47]
辽宁大伙房水库		4.850	9.140 0	216	1986	[30]
江苏溧湖	135.940 0	7.805	5.933 8	45	2006	[3]

注:空白处表示该研究成果未列出该项数据,表 4 同。

表 4 统一单位后的初级生产力测定结果

研究水域地点	水体营养类型	初级生产力[$\text{mg C}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$]		
		叶绿素 a 法	黑白瓶法	生物量法
广西澄碧湖	贫营养型	497.4	87.3	395.8
长江天鹅洲故道	贫偏中营养型		408.0	1115.4
广西澄碧湖	贫偏中营养型	926.9	381.6	518.3
辽宁柴河水库	中营养型		507.0	2 862.3
福建峰头水库	中营养型		798.0	2 236.7
江苏太湖	中偏富营养型	351.0	454.5	
河北浮桥水库	中偏富营养型	1 440.6	825.0	
长春南湖	富营养型	1 661.0	849.0	
辽宁大伙房水库	富营养型		1 455.0	5 394.1
江苏溧湖	高富营养型	4 074.1	2 341.5	3 501.9

从表 3、表 4 可以看出,搜集到的从贫营养型到富营养型其他水域初级生产力相关研究成果数据表现出与本研究测定结果较为一致的趋势,即叶绿素法测得的水体初级生产力结果最高,浮游植物生物量法次之,黑白瓶法测定结果最低。叶

结果为 1 个单位计,则叶绿素法的测定结果平均为黑白瓶法的 2.74 倍,浮游植物生物量法的测定结果平均为黑白瓶法的 1.92 倍,分析结果见图 2。

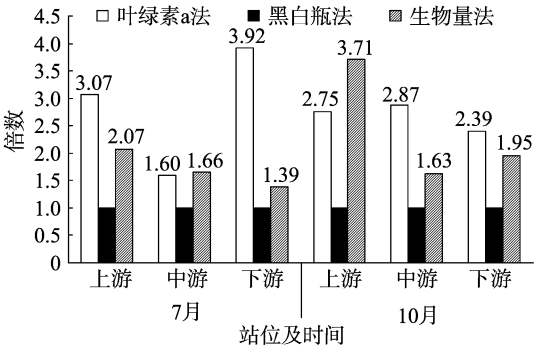


图2 3 种初级生产力测定方法结果比较

2.3 其他水域 3 种测定方法结果的差异

按不同营养类型水体搜集其他水域同时利用 2 种以上方法测定初级生产力的成果,类比验证本研究的测定结果,共收集贫营养型、贫偏中营养型、中营养型、中偏富营养型、富营养型、高富营养型 6 类水域水体初级生产力相关研究成果 10 组。相关水域的初级生产力测定结果见表 3,统一换算为以 C 单位计后的初级生产力结果见表 4。

绿素法测定的水体初级生产力结果平均比生物量法高 40.28%,比黑白瓶法平均高 139.02%;浮游植物生物量法测得的初级生产力结果全部比黑白瓶法高,平均高 218.25%。6 种不同水域的 10 组数据中只有 1 个水域(太湖)的测定结果^[4]出现叶绿素法测定的初级生产力结果比黑白瓶法的低(图 3)。

3 讨论与结论

3.1 初级生产力测定方法本身的局限可能导致测定结果出现误差

影响水体生产力水平及其结构特征的生态过程较为复杂,不同水域物理化学等诸多背景因子各异^[1],水体初级生产力不仅受浮游植物、光照、温度、营养盐、pH 值、水生植物、着生藻类和自养细菌等环境因子影响,不同的测定方法和测定手段也可能导致结果误差^[2,15-16,18,22-25]。相关学者从理论层面分析了不同测定方法的缺陷,有的研究者在实践中发现了不同测定方法出现误差的可能性。根据黑白瓶法的基本假

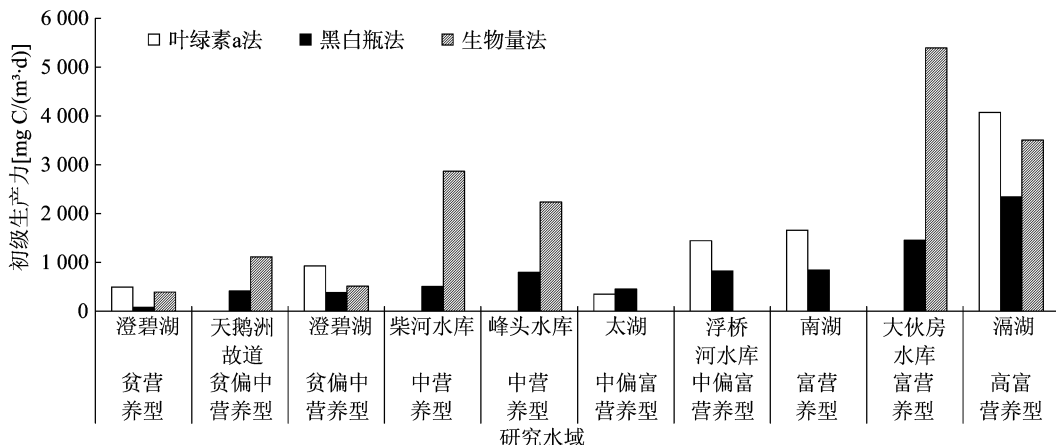


图3 不同水域不同测定方法初级生产力测定结果

设条件,由于样品中的异养生物可能会消耗部分氧,其测定结果往往偏低。黑白瓶法更适用于富营养化水域,在浮游植物较少、水被污染或细菌较多时,其测定结果往往不够准确^[15,52-53];叶绿素法的适应性较广,但其测定结果会因外界条件和藻类的生理状态而可能出现较大变化,不同的有机溶剂都不能将藻类细胞的叶绿素完全提取,不同溶剂的提取程度各有不同。在水体浑浊时及叶绿素浓度低时,其测定结果准确性也受到影响;浮游动物生物量需要较高的生物学和藻类分类学专业知识,其准确性建立在采样和固定过程的规范性和及时性、准确鉴别种类及其质量,以及保证计数样本的代表性^[15,18-19,22,44]。

3.2 不同水域初级生产力测定结果进行比较可能出现的偏差

影响初级生产力测定结果的因素较多,不同水域背景因素不同,不同研究者的试验手段和过程也不尽相同,由于不可能全面了解所有测定结果的研究背景,本研究类比不同水域初级生产力测定结果时也有可能出现偏差。

首先是本实验采用的统一计量单位的手段存在误差的可能,由于采用了统一的同化系数、统一的换算公式和相同光照时长可能会导致误差。因为同化系数 $3.7 \text{ mg C}/(\text{mg Chla} \cdot \text{h})$ 是经验数据的平均值,不同水域的数值其实不尽相同,而且可能差异较大^[18,20,23,25,54];本研究将叶绿素 a 结果转换为 C 单位公式是基于水深大于 3 倍透明度前提的,当透明度大于水深时则需要修正^[18];不同地区的光照时长和强度都会有不同,因此偏差是可能存在的。

此外,不同人员采集样品的水层不同可能会导致差异。因为不同水层的初级生产力受光的影响会有不同^[23-24];不同人员曝光时段和时长不同可能会导致差异。因为曝光长和曝光时段会影响测定结果^[23-24];不同天气情况测定结果可能会导致差异。因为光显著影响初级生产力水平^[13,38],挂瓶过程中出现阴雨天气会使测定结果偏低;不同水域化学指标不尽相同可能会导致差异,如初级生产力与 pH 值呈显著相关^[23-24,40];不同的测定季节和不同水域的藻类种群及其比例不同会导致差异。叶绿素在不同类群藻类中含量各不相同,在不同水生态环境下含量会有变化,在藻类细胞不同生理状态下含量也有所不同。藻类的优势种群不同会导致初级生产力的改变^[18,44];不同水域的透明度差异及季节性变化会导致

差异,因为透明度是浮游植物初级生产力决定因素之一^[2,18];不同试验手段和过程会导致差异。采用不同的溶剂及离心步骤会导致结果差异^[21,23-24,55];不同实验室条件及精准水平,也会影响测定结果。

3.3 测定结果的可靠性

虽然水体初级生产力测定结果受到测定方法局限及诸多其他因素的影响,难免出现误差,但只要测定结果误差在可接受范围,其结果还是具有科学意义。如叶绿素含量虽然会受其他条件影响而改变,但在相对稳定的生态系统中还是具有一定的稳定性^[18]。

本研究类比结果虽然有出现偏差的可能,但 3 种测定方法所有的测定结果中,除 1 个水域的测定结果出现叶绿素法测定的初级生产力结果比黑白瓶法的低外,全部表现出叶绿素法测得的水体初级生产力结果最高、浮游植物生物量法次之、黑白瓶法测定结果最低的趋势。大部分结果出现较为一致的趋势,应该在一定程度上具有普遍性。

对于唯一出现叶绿素法测定的初级生产力结果比黑白瓶法测定结果低的太湖水域,可能是由于其测定时透明度过低的原因,相对其他水域,该水域进行初级生产力测定时仅为 36 cm 的透明度明显偏低,但透明度又是初级生产力决定因素之一,而且多数情况是正相关关系,因而导致该测定结果异常^[2,18]。

本研究测得的叶绿素法测定结果平均比浮游植物生物量法高 42.81%,比黑白瓶法高 173.75%。搜集到的其他类水域叶绿素法测定的水体初级生产力结果平均比生物量法高 40.28%、比黑白瓶法平均高 139.02%;如果剔除太湖这个唯一的异常数据,则叶绿素法测定结果平均比浮游植物生物量法高 40.28%,比黑白瓶法高 171.38%,本研究测定结果与其基本吻合。从另一方面说明,叶绿素法与黑白瓶法的初级生产力测定结果之间存在一定的关联性。

3.4 结论

3 种常用测定方法中以叶绿素法测得的水体初级生产力结果最高,浮游植物生物量法次之,黑白瓶法测定结果最低,叶绿素法与黑白瓶法的初级生产力测定结果之间存在一定的关联性。常用的测定方法均存在一定的局限性,但可以一定程度上反映水体的水体初级生产力特征。在水体初级生产力测定实际应用中,如果能多做重复测定、在不同季节和不同天

气条件下测定、通过不同方法测定,然后选取加权综合值,可以避免误差过大。如果只是为了分析水体营养状况,通过初级生产力测定即可反映。如果测定的初级生产力结果需要用于估算水体鱼产力时,则应尽量做多重重复测定。水体初级生产力只是基于浮游植物估算,在进行鱼产潜力估算实践的时候,还应考虑浮游动物、底栖动物、水生维管束植物、有机碎屑和细菌贡献的生产潜力,否则水体鱼产潜力将被低估^[8,11,46]。用生物量法估算鱼产潜力时,还应该考虑不同水域藻类的转换系数、利用率及饵料系数会有不同等因素^[8]。此外,还可以使非初级生产力结果的方法估算水体鱼产潜力^[48],根据二者之间的不同,确定采用合理的估算量。

参考文献:

- [1]郭劲松,李伟,李哲,等. 三峡水库小江回水区春季初级生产力[J]. 湖泊科学,2011,23(4):591-596.
- [2]卢子园,王丽卿,季高华,等. 淀山湖基于初级生产力的鲢鳙富营养化控制[J]. 生态学杂志,2010,29(7):1365-1370.
- [3]彭刚,李潇轩,郝忱,等. 太湖夏季浮游植物初级生产力测定[J]. 渔业经济研究,2007(1):46-48.
- [4]陈校辉,彭刚,王明华,等. 太湖夏季浮游植物叶绿素 a 与初级生产力的测定[C]//2009 江苏省水产学术年会暨学术研讨会论文集. 南京:江苏省水产学会,2009:112-115.
- [5]张征,翟良安,李谷,等. 长江天鹅洲故道浮游生物调查及鱼产力的估算[J]. 淡水渔业,1995,25(5):16-18.
- [6]邹红娟,杨汉运,陈郁敏,等. 峰头水库鱼产力资源调查[J]. 水利渔业,1994(4):26-28.
- [7]申岑,焦媛春,白岩青,等. 拉市海浮游生物群落特征及其初级生产力和鱼产力的估算[J]. 云南师范大学学报(自然科学版),2012,32(4):52-59.
- [8]何志辉. 水体生物生产力和鱼产力[J]. 湖南水产科技,1983(1):3-10.
- [9]吴永俊,魏杰,刘金剑,等. 红海水库浮游生物调查及鱼产力分析[J]. 水产养殖,2013,34(7):23-27.
- [10]韦兰英,陈宗永,吴延志,等. 南宁市南湖浮游生物及鱼产潜力评估[J]. 农业与技术,2014,34(4):173-176.
- [11]陈卫境. 如何根据天然饵料基础估算鱼产力[J]. 水产科技情报,2002,29(4):192.
- [12]周辉明,周小仁,王伟萍,等. 仙女湖初级生产力及其鱼产力研究[J]. 江西水产科技,2012(3):11-14.
- [13]王玉佩,林春友,王丙胜,等. 于庄水库初级生产力调查研究[J]. 河北渔业,2009(7):4-5.
- [14]万成炎,唐支亚,陈光辉,等. 云龙湖水库的理化特性和初级生产力评价[J]. 水利渔业,2005,25(1):53-55.
- [15]阎希柱. 初级生产力的不同测定方法[J]. 水产学杂志,2000,13(1):81-86.
- [16]胡勇军,孙刚,韩德复. 长春南湖水生生态系统的初级生产(I)——浮游植物[J]. 东北师大学报(自然科学版),2001,33(2):80-83.
- [17]史为良,夏德昌,董双林,等. 大伙房和柴河两水库的环境因子同鲢、鳙生长和产量变动的关系[J]. 海洋与湖沼,1994,25(1):77-86.
- [18]王骥,王建. 浮游植物的叶绿素含量、生物量、生产量相互换算中的若干问题[J]. 武汉植物学研究,1984,2(2):249,258.
- [19]杜胜蓝,黄岁樑,臧常娟,等. 浮游植物现存量表征指标间相关性研究 I:叶绿素 a 与生物量[J]. 水资源与水工程学报,2011,22(1):40-44.
- [20]王俊,李洪志. 渤海近岸叶绿素和初级生产力研究[J]. 海洋水产研究,2002,23(1):23-28.
- [21]王玉芳,杨士斌,刘得银,等. 浮游植物叶绿素 a 含量不同方法测定比较——以白洋淀区域水体为例[J]. 水文,2014,34(5):57-60.
- [22]孙松,张永山,吴玉霖,等. 胶州湾初级生产力周年变化[J]. 海洋与湖沼,2005,36(6):481-486.
- [23]张运林,秦伯强,陈伟民,等. 太湖梅梁湾春季浮游植物初级生产力[J]. 湖泊科学,2005,17(1):81-86.
- [24]赵文,董双林,张兆琪,等. 盐碱池塘浮游植物初级生产力日变化的研究[J]. 应用生态学报,2003,14(2):234-236.
- [25]李斌,谷伟丽,靳洋,等. 烟台四十里湾叶绿素 a 和初级生产力的分布特征[J]. 渔业科学进展,2012,33(2):19-23.
- [26]刘沙沙,董家华,房巧丽,等. 广州市南沙区水生生态环境现状的调查研究[J]. 环境污染与防治,2013,35(3):39-42,47.
- [27]刘诚刚,宁修仁,孙军,等. 2002 年夏季南极普里兹湾及其邻近海域浮游植物现存量、初级生产力粒级结构和新生产力研究[J]. 海洋学报,2004,26(6):107-117.
- [28]乐凤凤,郝铨,金海燕,等. 2012 年楚科奇海及其邻近海域浮游植物现存量 and 初级生产力粒级结构研究[J]. 海洋学报,2014,36(10):103-115.
- [29]乐凤凤,宁修仁,刘诚刚,等. 2006 年冬季南海北部浮游植物生物量和初级生产力及其环境调控[J]. 生态学报,2008,28(11):5775-5784.
- [30]吴易超,郭丰,黄凌风,等. 北部湾夏季浮游植物叶绿素 a 含量的分布特征[J]. 广州化工,2014,42(8):144-146.
- [31]赵文,邢辉,安立会. 不同粒级浮游植物对淡水初级生产力的作用[J]. 大连水产学院学报,2001,16(3):157-162.
- [32]周伟华,袁翔城,霍文毅,等. 长江口邻域叶绿素 a 和初级生产力的分布[J]. 海洋学报,2004,26(3):143-150.
- [33]朱爱民,刘家寿,胡传林,等. 湖北浮桥水库浮游植物初级生产力及其管理[J]. 湖泊科学,2007,19(3):340-344.
- [34]闫喜武,郭海军,何志辉. 用叶绿素法测定虾池浮游植物初级生产[J]. 大连水产学院学报,1998,13(2):9-16.
- [35]田时弥,杨扬,乔永民,等. 珠江流域东江干流浮游植物叶绿素 a 时空分布及与环境因子的关系[J]. 湖泊科学,2015,27(1):31-37.
- [36]万丹,吴光应. 黑白瓶测氧法测定大宁河白水河段初级生产力[J]. 环境科学与技术,2013(增刊2):264-266.
- [37]陈洋. 三峡水库香溪河库湾浮游植物初级生产力研究[D]. 宜昌:三峡大学,2013:13-65.
- [38]张运林,秦伯强,陈伟民,等. 太湖梅梁湾浮游植物叶绿素 a 和初级生产力[J]. 应用生态学报,2004,15(11):2127-2131.
- [39]邵晓阳,徐耀阳,韩新芹,等. 香溪河官庄坪库湾叶绿素 a 及初级生产力的分布特征[J]. 水生生物学报,2006,30(1):95-100.
- [40]汪益斌,张维砚,徐春燕,等. 淀山湖浮游植物初级生产力及其影响因子[J]. 环境科学,2011,32(5):1249-1256.
- [41]段洪涛,张柏,宋开山,等. 长春南湖水体透明度光谱定量模型研究[J]. 中国科学院研究生院学报,2006,23(5):633-639.
- [42]刘子琳,宁修仁,蔡昱明. 杭州湾-舟山渔场秋季浮游植物现存量 and 初级生产力[J]. 海洋学报,2001,23(2):93-99.

张 婷,左雪枝.油茶产黄酮内生真菌的诱变育种[J].江苏农业科学,2018,46(1):206-209.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.01.054

油茶产黄酮内生真菌的诱变育种

张 婷,左雪枝

(荆楚理工学院生物工程学院,湖北荆门 448000)

摘要:以实验室保存的从油茶中分离出来的、具有产黄酮能力的内生真菌 JS-Ye6 为研究对象,为提高其产黄酮能力,先通过单因素诱变即紫外线(UV)诱变、亚硝酸(HNO_2)诱变分别获得最佳正突变菌株 YZ-8、YY-4,它们的黄酮产量提高率分别为 37.04%、16.26%;然后采用复合诱变法对菌株 YZ-8、YY-4 分别进行 HNO_2 诱变、UV 诱变,结果显示 UV- HNO_2 复合诱变的效果优于 HNO_2 -UV 复合诱变的效果,并最终筛选得到最佳正突变菌株 Y-UH-2,黄酮产量为 0.022 4 mg/mL,比对照菌株 JS-Ye6 产量提高 53.4%,且菌株连续传代稳定性较好。

关键词:紫外诱变;亚硝酸诱变;复合诱变;黄酮产量;内生真菌 JS-Ye6;诱变育种

中图分类号: S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)01-0206-04

植物内生真菌存在较为广泛,无论是陆地植物还是水生植物,在它们体内都发现了内生真菌。植物体内的内生真菌种类也是不唯一的,有些植物中内生真菌多达几百种,据统计平均每种寄主有 4~5 种寄生菌^[1-2]。内生真菌不仅分布广、种类多,而且具有特殊的代谢产物,很多代谢产物具有促进植物生长、杀虫、抗菌、抗氧化等作用^[3]。

油茶(*Camellia oleifera*)在我国南方具有悠久的栽培和利用历史,油茶属于山茶科山茶属中一类含有较高油脂的油料物种^[4]。油茶蒲的提取物含有丰富的生物活性物质,具有抗癌、减肥降脂、降血糖、改善良性前列腺增生等生物活性^[5]。试验前期已从油茶中分离出多种内生真菌,并对内生真菌的代谢产物进行初步研究发现,一些可以产黄酮的内生真菌中,JS-Ye6 菌株产黄酮能力最强,但其产黄酮的能力仍远远达不到工业化生产的要求,因此希望通过对 JS-Ye6 菌株进行

诱变处理使其产生基因突变,获得产黄酮能力较高的正突变菌株。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

JS-Ye6 菌株(实验室保存);芸香苷标准品和其他分析纯化学试剂[乙醇、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、乙二醇四乙酸(简称 EDTA)、琼脂粉、冰乙酸、无水乙酸钠、乙酸乙酯]均购自湖北省荆州市昌华科教仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 菌丝悬液的制备 将保存的菌株接种于 PDA 平板培养 3~4 d,选取 PDA 培养基上生长较旺盛的菌落,用接种环将菌丝体挑下,接入装有少量已灭菌玻璃珠的 PDA 液体培养基(50 mL/150 mL)中,28 ℃ 150 r/min 摇床培养 48 h,吸取液体培养基稀释至 10^{-4} ,得到菌丝悬液。

1.2.2 菌株的诱变 参照崔迎的诱变方法^[6]进行菌株诱变。先进行单因素诱变[紫外线(UV)诱变和亚硝酸(HNO_2)诱变],确定单因素诱变中的最佳正突变菌株,再进行复合诱变。

1.2.3 菌株的初筛 诱变处理的菌液在培养时,每天都要观

收稿日期:2016-07-29

基金项目:湖北省教育厅科研项目(编号:Q20134301);荆楚理工学院校级科研基金(编号:ZR201403)。

作者简介:张 婷(1980—),女,湖北襄阳人,硕士,讲师,主要从事微生物资源利用研究。E-mail:ztixianyun@126.com。

[43]万 蕾,朱 伟.重污染河道中浮游植物初级生产力特征[J].生态环境学报,2010,19(1):34-39.

[44]杜胜蓝,黄岁樑,臧常娟,等.浮游植物现存量表征指标间相关性研究 II:叶绿素 a 与藻密度[J].水资源与水工程学报,2011,22(2):44-49.

[45]李杰人,杨宁生,徐忠法.水产种质资源共享平台技术规范[M].北京:中国农业科学技术出版社,2008:819-840.

[46]广西壮族自治区水产研究所.广西壮族自治区内陆水域渔业自然资源调查研究[M].南宁:青年印刷厂,1984:235-347.

[47]刘显臣.长春南湖水体富营养化治理效果分析[J].湿地科学,2005,3(4):274-278.

[48]李新辉.珠江水生生物资源增殖放流技术手册[M].北京:科学出版社,2014.

[49]水库渔业营养类型划分标准:SL 218—1998[S].

[50]何志辉.中国湖泊和水库的营养分类[J].大连水产学院学报,1987,8(1):1-10.

[51]沈锡芬,章宗涉,龚循矩,等.微型生物监测新技术[M].北京:中国建筑工业出版社,1990:120-139.

[52]张党民,何志辉.内陆水域渔业自然资源调查手册[M].北京:农业出版社,1991:45-51.

[53]尼贝肯 J W.海洋生物学——生态学探讨[M].林光恒,李和平,译.北京:北京海洋出版社,1991:44-45.

[54]吕瑞华.山东沿海浮游植物的同化系数[J].青岛海洋大学学报,1993,23(3):49-54.

[55]陈宇炜,高锡云.浮游植物叶绿素 a 含量测定方法的比较测定[J].湖泊科学,2000,12(2):185-188.