



研究报告

两株采自惠州的细鞘丝藻亚科(*Leptolyngbyaceae*)嗜热蓝细菌的分离鉴定及细胞组分分析张艳婷¹ 江东¹ 唐杰² 雒义凡¹ 梁园梅¹ MD Mahfuzur R. Shah¹
金鹏^{*1} Maurycy Daroch¹¹ 北京大学深圳研究生院 广东 深圳 518055² 成都大学药学与生物工程学院 四川 成都 610106

摘要:【背景】随着 CO₂ 排放增加, 全球变暖愈发严峻, 嗜热蓝细菌作为能够在 45 °C 及以上环境中生长并实现生物固碳的微生物, 具有重要的研究意义。【目的】对从广东惠州地区采集的藻种进行分离鉴定, 并筛选出 2 株嗜热蓝细菌, 研究其生长特性, 为嗜热蓝细菌的后续应用提供依据。【方法】通过 16S rRNA 基因、藻蓝蛋白链 A 基因(PhycA)序列分析确定从惠州地区采集到的菌株的分类学位置。对 PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 两株嗜热蓝细菌进行形态观察和主要细胞成分(灰分、糖类、脂质、蛋白质和色素)分析。【结果】共分离出 12 株嗜热蓝细菌, 其中 PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 菌株, 形态上呈蓝绿色球形毛状体, 是由细胞形成密集的簇, 彼此附着形成的。两株嗜热蓝细菌的主要细胞成分是糖类, 分别占细胞干重的 36.42% 和 28.46%。PKUAC-GDTS1-24 的灰分、脂质和蛋白质含量分别为 24.41%、21.40% 和 26.64%。PKUAC-GDTS1-29 的细胞中, 灰分、脂质和蛋白质含量分别为 24.72%、23.92% 和 12.93%。藻蓝蛋白(Phycocyanin, PC)在 PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 中的含量分别为 157.29 mg/g DW 和 374.86 mg/g DW, 类胡萝卜素分别为 65.13 mg/g DW 和 18.87 mg/g DW。【结论】基于系统发育树研究, 本实验的 2 个分离株属于细鞘丝藻亚科(*Leptolyngbyaceae*), 与研究较少的纤发鞘丝蓝细菌属(*Leptolyngbya*)菌株相近, 可能是广东和四川温泉中存在的一种新型丝状轻度嗜热蓝细菌属或 *Leptolyngbya* 新种。嗜热菌株 PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 的形态和细胞组成相似, 通过比较, 2 个菌株的藻胆蛋白含量远远高于其他研究报道的 *Leptolyngbya* 蓝细菌, 尤其是 PKUAC-GDTS1-29 可以作为藻蓝蛋白生产的潜在菌株。

关键词: 嗜热蓝细菌, 纤发鞘丝蓝细菌属(*Leptolyngbya*), 鉴定, 细胞组分

Foundation items: National Natural Science Foundation of China for Young International Scientists (31550110497); Shenzhen Knowledge and Innovation Basic Research Grant (JCYJ20160122151433832); Start-up Fund to Jie Tang from Chengdu University, China (2081917012)

***Corresponding author:** E-mail: jinpeng@pkusz.edu.cn

Received: 13-03-2018; **Accepted:** 14-05-2018; **Published online:** 15-06-2018

基金项目: 国家自然科学基金外国青年基金(31550110497); 深圳市知识创新计划基础研究基金(JCYJ20160122151433832); 成都大学唐杰的启动基金(2081917012)

***通信作者:** E-mail: jinpeng@pkusz.edu.cn

收稿日期: 2018-03-13; **接受日期:** 2018-05-14; **网络首发日期:** 2018-06-15

Isolation and characterization of two thermophilic *Leptolyngbyaceae* strains isolated from Huizhou area, China

ZHANG Yan-Ting¹ JIANG Dong¹ TANG Jie² LUO Yi-Fan¹ LIANG Yuan-Mei¹

MD Mahfuzur R. Shah¹ JIN Peng^{*1} Maurycy Daroch¹

¹ Peking University Shenzhen Graduate School, Shenzhen, Guangdong 518055, China

² School of Pharmacy and Bioengineering, Chengdu University, Chengdu, Sichuan 610106, China

Abstract: [Background] With the increase of CO₂ emissions and global temperatures, thermophilic cyanobacteria are considered as a promising group of organisms to convert CO₂ into useful chemicals and biofuels at 45 °C or above. [Objective] This paper describes isolation and identification of thermophilic cyanobacteria collected from Huizhou area, and describes growth characteristics of two strains belonging to the family *Leptolyngbyaceae* to provide the basis for their subsequent application. [Methods] 16S rRNA gene and phycocyanin alpha chain (PhycA) gene sequences were used in phylogenetic analysis to determine the taxonomical position of isolates from Huizhou area. Two strains PKUAC-GDTS1-24 and PKUAC-GDTS1-29 were observed morphologically and analyzed for major cellular components (ash, carbohydrate, lipid, protein and pigment). [Results] Twelve strains of thermophilic cyanobacteria were isolated, of which PKUAC-GDTS1-24 and PKUAC-GDTS1-29 were morphologically blue-green globular trichomes. Cells forming trichome formed dense clusters, that mostly attached to each other. Cellular contents of: ash, lipids, and protein were estimated to be 24.41%, 21.40%, 26.64%, respectively in PKUAC-GDTS1-24 strain. Carbohydrates were the major component of the strain at 36.42%. In another strain, PKUAC-GDTS1-29, the cellular contents of: ash, lipids, and protein contents were estimated to be 24.72%, 23.92%, 12.93%, respectively. The carbohydrates once again were the most abundant component with 28.46%. The contents of phycocyanin (PC) in PKUAC-GDTS1-24 and PKUAC-GDTS1-29 were 157.29 and 374.86 mg/g dry weight respectively, and the carotenoids were 65.13 and 18.87 mg/g dry weight, respectively. [Conclusion] Based on the phylogeny, PKUAC-GDTS1-24 and PKUAC-GDTS1-29 belong to the family *Leptolyngbyaceae* and cluster with many poorly described isolates. These isolates may be a potentially novel phylotype or a new genus of filamentous mildly thermophilic cyanobacteria that are present in the hot springs of Guangdong and Sichuan. The morphological features and cellular composition of both thermophilic *Leptolyngbya*-like strains were similar. To our best knowledge, the two strains are the highest phycobiliprotein producers described to date from this cyanobacterial family, which could be used as potential strains for phycocyanin production, especially PKUAC-GDTS1-29.

Keywords: Thermophilic cyanobacteria, *Leptolyngbya*, Identification, Cellular components

蓝细菌(*Cyanobacteria*)又称为蓝藻,属于蓝藻门(*Cyanophyta*),原核生物,无叶绿体及线粒体等细胞器的分化,根据形态表征、生长环境和代谢途径分类,大致有 150 属,2 000 余种^[1-2]。嗜热蓝细菌是一类分离于温泉地带,最佳生长温度为 45 °C 或更高的蓝细菌^[3],是能够在高温条件下生长的重要的初级生产者。生长在极端热环境中的微生物在能量代谢和物质循环中起着至关重要的作用^[4]。蓝细菌在自然界中广泛分布,可生长在一些极端环境

下,包括温泉^[5]。这些自养原核生物在生物固碳、氧气生产和氮固定方面发挥重要作用^[6],能够将光能和二氧化碳转化为高附加值产品,并且可以作为“自养型细胞工厂”合成生物燃料,被认为是非常具有研究潜力的微生物^[7-11]。蓝细菌细胞中含有多糖、类胡萝卜素和藻蓝蛋白^[7,12-13]等多种高价值的生物活性物质,其中色素可以用作食品、化妆品和药品中的天然着色剂^[13],蛋白质可以用作膳食补充剂,某些菌株甚至能够为人类和动物提供必需蛋白

质^[14-15]。近几年,蓝细菌藻蓝蛋白(Phycobiliproteins, PBP)的研究引发学者关注,它是蓝细菌体内独特的捕光色素蛋白复合物,根据光谱特性分为3类:藻蓝蛋白(Phycocyanin, PC)、藻红蛋白(Phycoerythrin, PE)和别藻蓝蛋白(Allophycocyanin, APC)^[16-17]。它可以作为一种天然着色剂^[13];也可以利用其荧光特性应用于免疫学或作为实验研究中的荧光标记物^[6];其强抗氧化性也使其在工业应用中受到重视^[18-20]。从高温环境中分离和表征的蓝细菌具有更好的实际应用价值,具有较好的热稳定性^[21-22]。此外,嗜热蓝细菌可为工业CO₂利用提供强大的光合作用平台,在工业高温烟道气点源碳减排方面有可观的发展前景^[23]。

虽然使用蓝细菌作为细胞工厂已变得越来越普遍,但研究仍使用标准的实验室模型生物而非潜在的生产菌株进行。纤发鞘丝蓝细菌属(*Leptolyngbya*)属于细鞘丝藻亚科(*Leptolyngbyaceae*)^[24],迄今为止,Algaebase数据库显示*Leptolyngbyaceae*科中共有218种,其中*Leptolyngbya*有141种(<http://www.algaebase.org/>)。Kim等的研究发现*Leptolyngbya* sp. KIOST-1由于高效的生产力和高蛋白质含量,可用于生物质生产,并在营养方面有应用潜力^[25-26]。有研究表明,*Leptolyngbya*菌株具有良好的固氮活性和合成生长素的能力,在制备微生物肥料方面有应用价值^[27]。*Leptolyngbya*菌株可以有药物应用,生物活性化合物如Coibamide A、Dolastatin 12和Palmyrolide是用于治疗肺癌和乳腺癌的新型抗癌药物的重要成分^[28]。*Leptolyngbya*菌株的分离和表征为未来研究和应用提供了更多的潜在可能。

蓝细菌在能源和环境应用方面显示出巨大的潜力,然而,蓝细菌资源仍然在很大程度上尚未开发。本项工作的目的是从温泉生态系统中分离鉴定蓝细菌菌株,表征2株目前研究较少的细鞘丝藻亚科(*Leptolyngbyaceae*)蓝细菌,评估其生物量生产力和细胞组成,验证是否是潜在的商业平台菌株^[29]。

这项研究为生物技术和环境应用中嗜热蓝细菌的分类和未来探索奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 样品

样品采自惠州地区横沥镇周围地热泉(N23°09'24.34", E114°36'54.40"),采用GPS定位。

1.2 培养基

BG-11培养基(蒸馏水配制, g/L): NaNO₃ 1.5, K₂HPO₄ 0.04, MgSO₄·7H₂O 0.075, CaCl₂·2H₂O 0.036, Na₂CO₃ 0.02, 柠檬酸 0.006, 柠檬酸铁 0.006, EDTA-Na₂ 0.001, 微量元素溶液 1 mL。微量元素溶液(g/L): H₃BO₄ 2.86, MnCl₂·4H₂O 1.81, ZnSO₄ 0.222, Na₂MoO₄ 0.39, CuSO₄·5H₂O 0.079, Co(NO₃)₂·6H₂O 0.049 4。

1.3 主要试剂和仪器

氯仿、甲醇、苯酚、硫酸、D-葡萄糖、石油醚、丙酮、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾,国药集团化学试剂有限公司;PCR相关试剂、基因组DNA提取试剂盒、DNA凝胶回收试剂盒及质粒小量提取试剂盒,上海捷瑞生物工程有限公司;大肠杆菌DH5 α ,天根生化科技(北京)公司;pMDTM19-T Vector Cloning Kit, TaKaRa公司;Whatman过滤膜、薄层色谱硅胶板,深圳市天翔玻璃仪器公司;细菌蛋白提取试剂,北京康为世纪生物科技有限公司;PierceTM BCA Protein Assay Kit,赛默飞世尔科技(中国)有限公司。C1000 TouchTM热循环仪, Bio-Rad公司;纳米光度计, Impeln公司;Epoch微孔板分光光度计, BioTech公司;超声波细胞破碎机,宁波科技生物技术有限公司;光学显微镜, OLYMPUS公司;便携式泵,圣斯特国际公司;马弗炉,上海阳光实验仪器有限公司;旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂。

1.4 温泉水样中嗜热蓝细菌的分离

从惠州横沥镇周围的地热泉采集藻垫,转移到含有温泉水的50 mL无菌离心管。样品在12 h内转移到实验室进行分离。从地热泉中收集大约3 L水

样,通过 0.2 μm 过滤膜进行浓缩后储存。将生物样转移到含有 20 mL BG-11 液体培养基^[30]的培养皿中,在平均光照强度为 7.1 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 、光周期为 16L:8D 的 45 °C 培养箱中进行富集培养。通过毛细管吸管洗涤和平板划线方法,分离纯化蓝细菌^[23],纯化后的菌株每 3 周进行传代培养。

1.5 形态分析

在 100–1 000 \times 放大倍数的显微镜下观察菌株的形态特征,主要观察以下特征:细胞尺寸,细胞排列成细丝或集落,细丝中的终端细胞形状,是否存在孢子、异形体或运动体等特定结构。根据形态特征鉴定蓝细菌^[31–33]。

1.6 DNA 提取、扩增和测序

依据 Singh 等^[34]的改良黄原酸盐法提取嗜热蓝细菌的基因组 DNA,琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA 质量。按即用型 PCR 试剂盒以蓝细菌基因组 DNA 为模板进行聚合酶链式反应(PCR)。引物 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和 1510R (5'-GGCTACCTTGTTACGA-3')扩增其 16S rRNA 基因(约 1 455 bp);藻蓝蛋白基因特异性引物为 PhycoA_F (5'-ATGAAAACNCCKWTWACTGAAGC-3')和 PhycoA_R (5'-TTAGCTGAGGGCRRTRATG GCGTA-3')扩增其 PhycoA 基因(约 488 bp)。20 μL PCR 反应体系:50 ng/ μL DNA 1 μL , 10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 上、下游引物各 0.5 μL , High-Fidelity PCR Master Mix 10 μL 和无菌去离子水 8 μL 。PCR 反应条件:94 °C 3 min; 95 °C 30 s, 52 °C 30 s, 72 °C 2 min, 30 个循环; 72 °C 10 min。将 PCR 产物克隆到 pMD19-T 载体中,并转化到大肠杆菌 DH5 α 中。阳性克隆送到深圳华大基因研究院进行商业测序以提供全长基因序列。16S rRNA 基因序列提交到 NCBI,登录号为 MG822732、MG822734–44。

1.7 系统发育分析

将测定的序列结果与 GenBank 数据库中搜集的蓝细菌参考菌株的 16S rRNA 基因和 PhycoA 序列,在 MEGA 7 软件中进行比对、编辑和修剪^[35],

绘制系统发育树。使用 BioEdit 7 (<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html>)对序列进行连接。用 PhyML V3.0 软件,采用最大似然法(ML)进行系统发育分析^[36],其中使用的参数设置参考 Tang 等^[37]。

1.8 生长条件和形态

将筛选出的嗜热蓝细菌接种到含有 350 mL BG-11 培养基的 500 mL 锥形瓶中,45 °C、100 r/min,光照为白光 LED, 70 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,光周期为 16L:8D 条件下培养。取对数生长期的嗜热菌株在光学显微镜下观察。培养 20 d 后,收集生物质用于随后的实验。

1.9 细胞成分分析

1.9.1 脂质

取大约 200 mg 的冷冻干燥的生物质用于提取脂质^[38]。加入氯仿:甲醇:水(2:4:1, 体积比)混合物,重复提取生物质直至提取液无颜色。合并提取液后,倒入 250 mL 分液漏斗中,再加 50 mL 氯仿和 50 mL 水使之分层。收集氯仿层,用旋转蒸发仪浓缩获得脂质后称重。将水-甲醇层和萃取后的残渣收集,用于下一步糖分析。

1.9.2 糖类

用苯酚-硫酸法,以 D-葡萄糖为标准糖测定总糖含量,包括多糖、低聚糖和单糖组分^[38]。将脂质提取后的残渣,用 1 mol/L 硫酸在 100 °C 条件下水解 2 h。水解产物稀释 100 倍用于之后的显色反应。亲水部分的含糖样品稀释 10 倍用于显色反应。显色反应是 1 mL 试样加入 1 mL 6%苯酚溶液和 5 mL 95.5%硫酸后,在 490 nm 处测量吸光度。

1.9.3 灰分

将约 80 mg 生物质放入坩埚中,置于 570 \pm 25 °C 的马弗炉中加热 6 h。待坩埚冷却至约 200 °C 后,转移至干燥器并冷却至室温。测量燃烧前、后的质量差来计算灰分含量。

1.9.4 蛋白质

总蛋白用细菌蛋白提取试剂结合超声波细胞

破碎机, 输出 9 s, 占空比 65%来提取。然后用 BCA 蛋白分析试剂盒进行定量分析。

1.9.5 色素

将离心收集的生物质, 加入 100%丙酮匀化, 进一步使用超声细胞破碎机破碎细胞 2 min (输出 9 s, 占空比 65%)后, 置于 4 °C 黑暗中保存 20 min, 4 °C、12 000 r/min 离心 3 min 后收集上清液, 测定其在 470、645、662 nm 的吸光度。根据公式(1)计算色素含量^[39]。

$$\begin{aligned} \text{Chlorophyll } a \text{ (mg/L)} &= 11.75A_{662} - 2.35A_{645} \\ \text{Chlorophyll } b \text{ (mg/L)} &= 18.61A_{645} - 3.96A_{662} \\ \text{Carotenoid (mg/L)} &= (1\,000A_{470} - \\ &2.27 \text{ Chlorophyll } a - 81.4 \text{ Chlorophyll } b)/227 \end{aligned} \quad (1)$$

用薄层色谱法[TLC, 石油醚:丙酮(7:3, 体积比)溶剂系统和硅胶板]测定色素类型^[40]。

用磷酸盐缓冲液(pH 6.8, 含有 Na_2HPO_4 和 KH_2PO_4)提取藻胆蛋白, 采用冻融法结合超声破碎细胞^[41-42]。通过分光光度法测量 615 nm 处的 PC, 652 nm 处的 APC 和 562 nm 处的 PE 的吸光度, 根据公式(2)计算藻胆蛋白含量^[43]:

$$\begin{aligned} \text{PC (mg/mL)} &= (A_{615} - 0.474A_{652})/5.34 \\ \text{APC (mg/mL)} &= (A_{652} - 0.208A_{615})/5.09 \\ \text{PE (mg/mL)} &= (A_{562} - 2.41 \text{ PC} - 0.849 \text{ APC})/9.62 \end{aligned} \quad (2)$$

2 结果与分析

2.1 分子鉴定和分类学表征

从惠州地区共分离出 12 株嗜热蓝细菌菌株, 为了确定其分类学位置, 对 PCR 扩增的 16S rRNA 基因和 *PhycoA* 序列经 BLAST 软件进行多序列比对, 构建出系统发育树, 如图 1-3 所示。基于系统发育树, 可以推断出其中 6 个菌株与 *Gloeocapsa* sp. PCC7428 的模型菌株非常紧密地聚类。因此, 这些菌株很可能与先前文献报道的菌株相似。更为有趣的是, 从惠州地区的温泉中分离出来的其他 6 株菌与目前研究较少的 *Leptolyngbyaceae* 的分支聚类^[23], 这使它们成为后续研究的重点。经过基于 16S

rRNA 基因、*PhycoA* 和 16S rRNA 基因+*PhycoA* 基因序列的系统发育分析, 我们发现这 6 株菌株表现出高度的系统发育同源性。因此, 从中选择两株菌 (PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29)进行更详细的生长特性表征, 包括它们的形态特征和细胞组成。

2.2 形态表征

PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 菌株的形态特征相似, 在液体培养基中, 细胞排列成非常致密的簇, 彼此附着形成毛状体或孤立的丝状物。毛状体为球形, 表面有细小的、不明显的透明鞘, 并且有少量假枝。在主细丝中细胞是等直径的或稍长于宽, 而顶端细胞是圆形的。细胞呈蓝绿色, 没有观察到异型细胞或运动细胞。这两种菌株的形态如图 4A、E 所示, 在液体培养基中嗜热蓝细菌形成小球。将蓝细菌切碎, 放在显微镜下观察, 细胞呈蓝绿色, 形成厚垫(图 4B、F)或自由浮游细胞(图 4D、H)。

2.3 生物量及生长速率测定

嗜热蓝细菌 PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 的生物量及生长速率用培养 20 d 后的生物质干重计算。如表 1 所示, PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 的生长速率分别为 0.010 g/(L·d) 和 0.037 g/(L·d), 总生物量产量分别为 0.783 g/L 和 1.430 g/L。与表 1 中其他类似菌株的生物质产量相当。

2.4 细胞组分

嗜热蓝细菌 PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 的主要细胞组分(糖类、脂质、蛋白质、灰分、色素)组成非常相似, 如表 1 所示。PKUAC-GDTS1-24 的脂质和蛋白质含量分别为 21.40%和 26.64%。糖类物质含量为 36.42%, 是其主要组成部分。PKUAC-GDTS1-29 的脂质和蛋白质含量分别为 23.92%和 12.93%, 糖类物质含量最高, 为 28.46%。2 株嗜热蓝细菌的灰分含量相似, 分别为 24.20%和 24.70%。

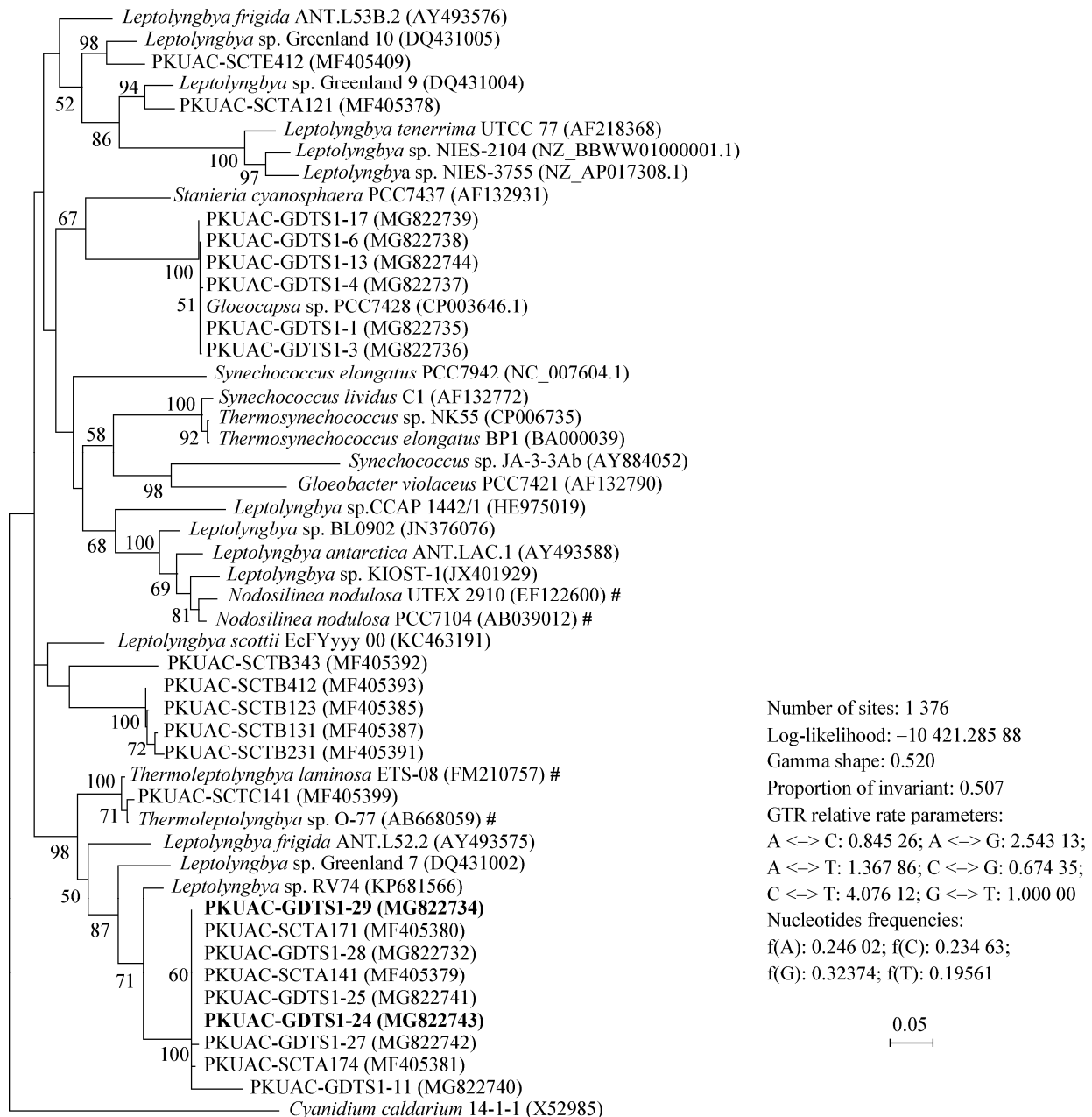


图 1 基于 16S rRNA 基因序列的系统发育树

Figure 1 Phylogenetic tree of 16S rRNA gene sequences

注: 基于 16S rRNA 基因序列的最大似然系统发育树, 包含 37 个蓝细菌参考菌株(从基因组中提取的基因序列), 12 个采自惠州(成功 PCR 扩增)的菌株, 1 个外群菌株 *Cyanidium caldarium* (16S rRNA 基因来自叶绿体基因组)。粗体的菌株编号代表本文研究的菌株。括号中序号是该菌株序列在 NCBI 的登录号, 分支点上的数字表示 Bootstrap 值>50% (1 000 个非参数复制), 比例尺表示进化差异。引号中的菌株可能有不确定的属名, 标有 # 的菌株是最近被重新分类或者建议根据最近的分类学结果重新分类。

Note: The maximum likelihood phylogenetic trees of 16S rRNA gene sequences representing thirty seven cyanobacterial reference strains (gene sequences extracted from genomes), twelve isolates from Huizhou (successful PCR amplification), China, and an outgroup strain *Cyanidium caldarium* (16S rRNA gene from chloroplast genome). Strain No. in bold represent strains isolated in this study. The number in parentheses is the accession number of the strain sequence at NCBI. Bootstrap values >50% (1 000 nonparametric replications) are indicated at nodes. Scale bar indicates estimated substitutions per site. Strains in "quotation marks" are likely to have a genus name that is uncertain. Strains marked with # have either been recently reclassified or are proposed to be reclassified based on recent taxonomic findings.

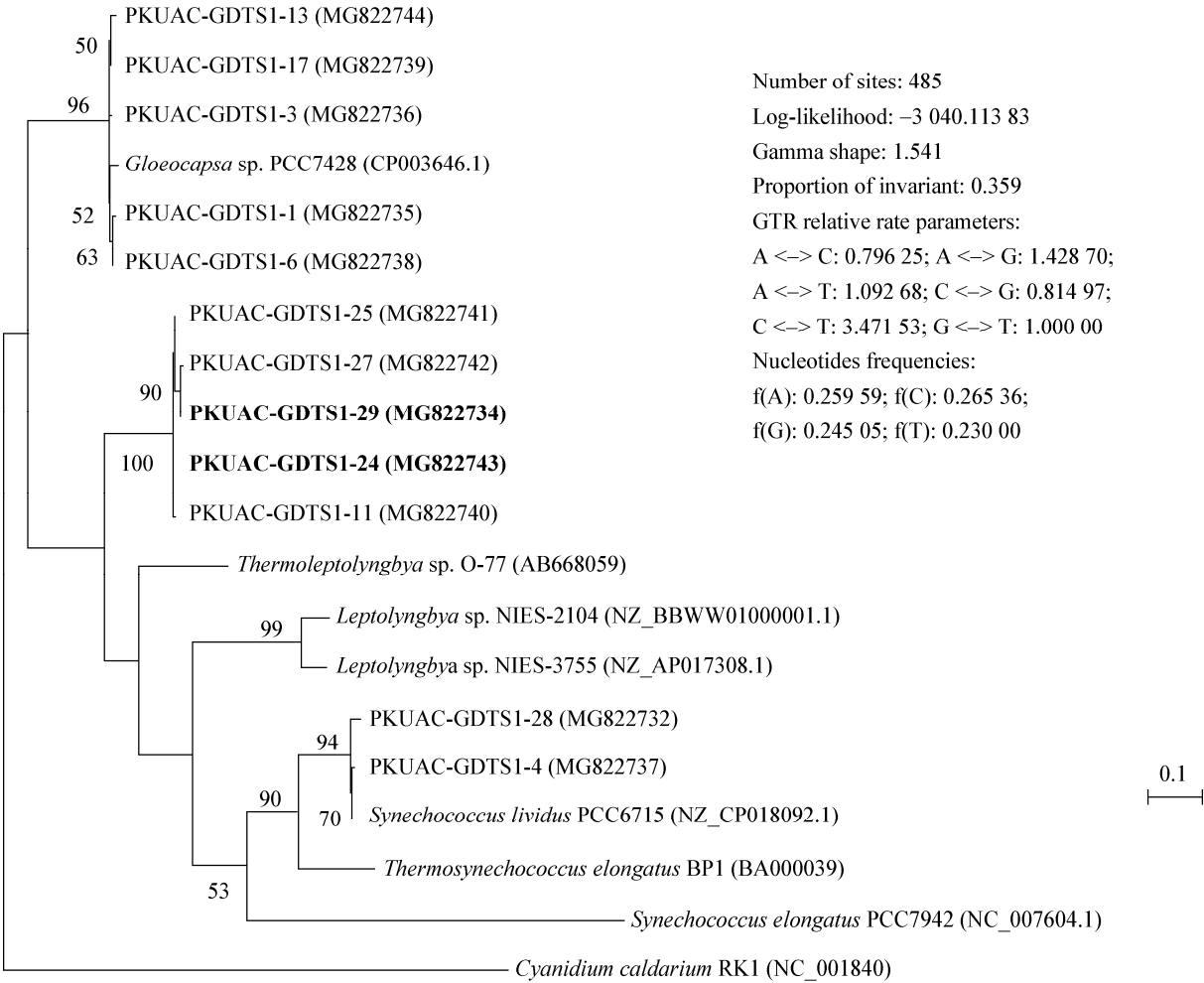


图 2 基于 *PhycoA* 基因序列的系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree of *PhycoA* gene sequences

注: 基于 *PhycoA* 基因序列的最大似然系统发育树, 包含 7 株蓝细菌参考菌株, 12 株采自惠州的菌株, 还有 1 株外群菌株 *Cyanidium caldarium* (从基因组中提取的 *PhycoA* 基因)。粗体的菌株编号代表本文研究的菌株。括号中序号是该菌株序列在 NCBI 的登录号, 分支点上的数字表示 Bootstrap 值>50% (1 000 个非参数复制), 比例尺表示进化差异。

Note: Maximum-likelihood phylogenetic tree of *PhycoA* gene sequences representing seven cyanobacteria reference strains, twelve isolates from Huizhou, China, and an outgroup strain *Cyanidium caldarium* (*phycoA* gene extracted from genome). Strain No. in bold represent strains isolated in this study. The number in parentheses is the accession number of the strain sequence at NCBI. Bootstrap values >50% (1 000 nonparametric replications) are indicated at nodes. Scale bar indicates estimated substitutions per site.

为进一步研究嗜热蓝细菌 PKUAC- GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29, 比较了其色素组成, 如表 2 所示。嗜热蓝细菌 PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC- GDTS1-29 中的色素组成分析显示两种菌株之间存在一些差异。PC 是藻胆蛋白中的主要成分, 在两个菌株中的含量为 157.29 mg/g DW 和 374.86 mg/g DW。PE 的含量最低, 分别为 23.79 mg/g DW 和 44.36 mg/g DW。APC 的含

量为 118.99 mg/g DW 和 244.05 mg/g DW。类胡萝卜素是这些嗜热蓝细菌中的主要色素, 在两种菌株中有较大差异, 在 PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 中含量分别为 65.13 mg/g DW 和 18.87 mg/g DW。在本研究中, PKUAC-GDTS1-24 的类胡萝卜素类型包括新黄素、紫黄素、胡萝卜素和叶黄素, PKUAC- GDTS1-29 中有除叶黄素外的其他 3 种类胡萝卜素。

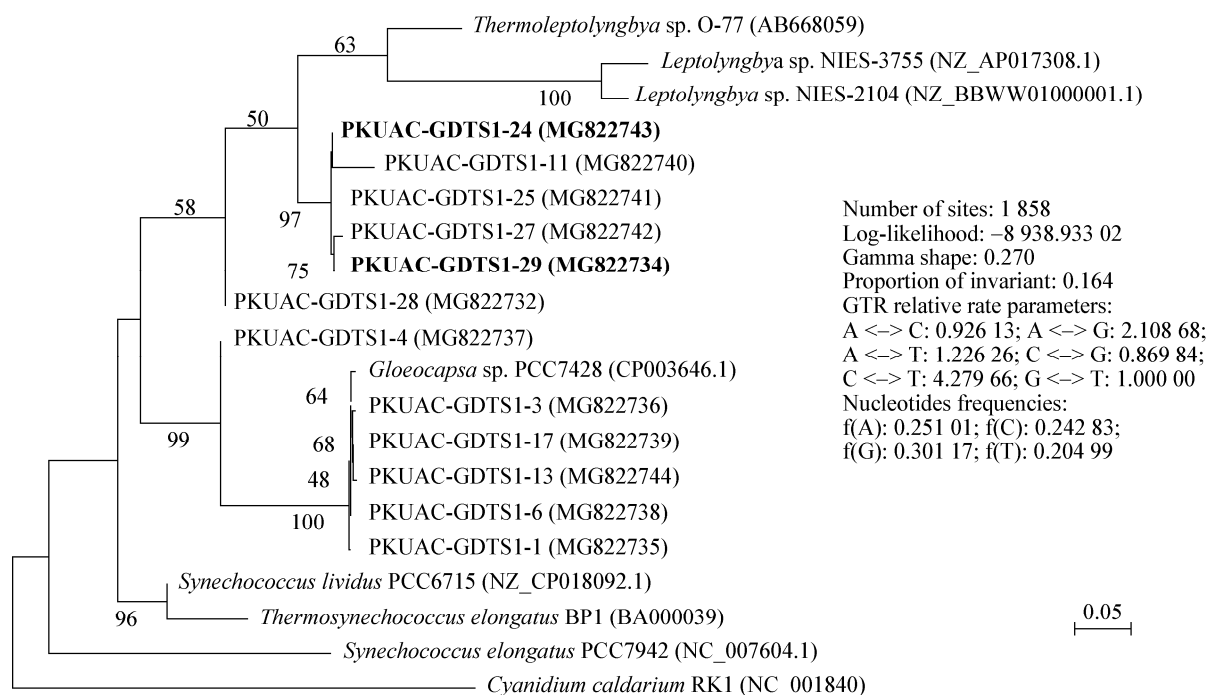


图3 基于16S rRNA基因+PhycoA基因序列的系统发育树

Figure 3 Phylogenetic tree based on concatenated alignment

注：基于16S rRNA基因+PhycoA基因序列的最大似然系统发育树，包含7株蓝细菌参考菌株，12株来自惠州的分离株，还有1株外群菌株 *Cyanidium caldarium* (从基因组中提取的序列)。粗体的菌株编号是本文研究的菌株。括号中序号是该菌株序列在NCBI的登录号，分支点上的数字表示 Bootstrap 值>50% (1 000 个非参数复制)，比例尺表示进化差异。

Note: Maximum-likelihood phylogenetic tree of 16S rRNA gene+PhycoA gene sequences representing seven cyanobacteria reference strains, twelve isolates from Huizhou, China, and an outgroup strain *Cyanidium caldarium* (sequences extracted from genome). Strain No. in bold represent strains isolated in this study. The number in parentheses is the accession number of the strain sequence at NCBI. Bootstrap values >50% (1 000 nonparametric replications) are indicated at nodes. Scale bar indicates estimated substitutions per site.

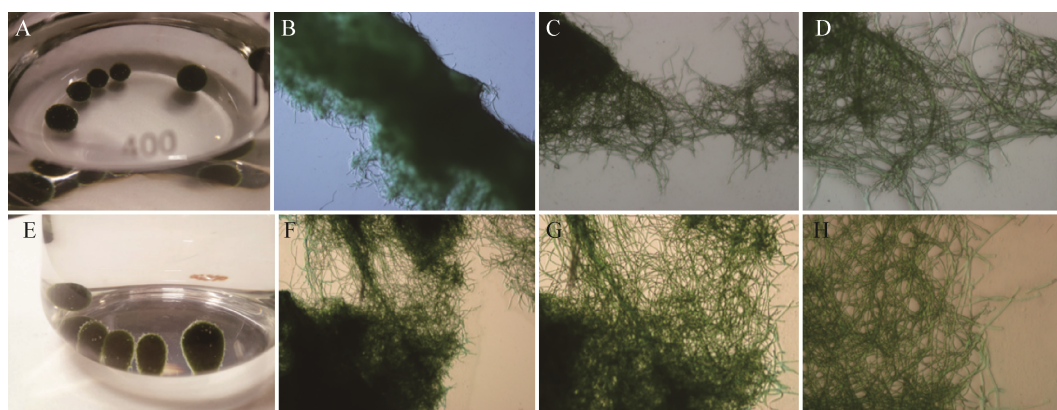


图4 光学显微镜下嗜热菌株 PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 的形态

Figure 4 Photos of thermophilic strains PKUAC-GDTS1-24 and PKUAC-GDTS1-29

注：A、E 是 BG-11 液体培养基中生长的蓝细菌形态；B-D：PKUAC-GDTS1-24 在放大倍数为 100、200、400 倍下的形态；F-H：PKUAC-GDTS1-29 在放大倍数为 100、200、400 倍下的形态。

Note: A, E: The photos of cells grown BG11 liquid media; B-D: The photos of strain PKUAC-GDTS1-24 were taken with microscope respectively under 100, 200, 400 times magnification; F-H: The photos of strain PKUAC-GDTS1-29 were taken with microscope respectively under 100, 200, 400 times scopes.

表 1 PKUAC-GDTS1-24、PKUAC-GDTS1-29 和其他 *Leptolyngbya* 菌株的生长条件, 细胞组分比较
Table 1 Comparison of growth condition, crude cellular components in PKUAC-GDTS1-24, PKUAC-GDTS1-29 and related *Leptolyngbya* strains

菌株 Strains	生长速率 Growth rate (g/(L·d))	生物质产量 Biomass production (g/L)	蛋白质 Protein (%)	脂质 Lipid (%)	糖类 Carbohydrate (%)	灰分 Ash (%)	培养条件 Cultivation conditions	参考文献 References
PKUAC-GDTS1-24	0.010	0.783	26.64	21.40	36.42	24.20	Cultivation in BG-11 at 45 °C, white LED of 70 μmol/(m ² ·s), 16L:8D (100 r/min) for 20 d	This study
PKUAC-GDTS1-29	0.037	1.430	12.93	23.92	28.46	24.70		This study
<i>Leptolyngbya</i> sp. KIOST-1	0.024 (BG-11); 0.051 (SOT)	/	53.30	11.60	24.80	10.30	Cultivation in SOT/BG-11 at 30 °C, white light of 100 μmol/(m ² ·s), 12L:12D for 28 d	[26]
<i>Leptolyngbya</i> sp. ISTCY101	0.061	/	/	/	/	/	Cultivation in BG-11 at 30 °C, white light of 50 μE/(m ² ·s), 24L:0D for 14 d	[44]
<i>Leptolyngbya</i> foveolarum	0.085	/	/	/	/	/	Cultivation in BG-11 at 28±2 °C, white light of 44.5 μmol/(m ² ·s), 14L:10D for 8 d	[45]
<i>Leptolyngbya</i> BL0902	/	/	38.80	5.80	14.60	37.60	Cultivation in BG-11 at 30 °C, fluorescent light of 125 μmol/(m ² ·s), 24L:0D for 14 d	[46]

注: /: 这一项没有数据.
Note: /: No data for this item.

表 2 PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 中色素含量的比较
Table 2 Comparison of pigments in PKUAC-GDTS1-24 and PKUAC-GDTS1-29

菌株 Strains	藻蓝蛋白 PC、 (mg/g DW)	别藻蓝蛋白 APC	藻红蛋白 PE	叶绿素 a Chla	叶绿素 b Chlb	类胡萝卜素 Total carotenoid	类胡萝卜素类型 Carotenoid types	培养条件 Cultivation conditions	参考文献 References
PKUAC-GDTS1-24	157.29	118.99	23.76	0.97	7.46	65.13	Neoxanthin violaxanthin carotenelutein	Cultivation in BG-11 at 45 °C, white LED of 70 μmol/(m ² ·s), 16L:8D (100 r/min) for 20 d	This study
PKUAC-GDTS1-29	374.86	244.05	44.36	0.45	2.15	18.87	Neoxanthin violaxanthin carotene		This study
<i>Leptolyngbya</i> sp. KC45	44	42	95	/	/	/	/	Cultivation in Castenholtz D at 40 °C, fluorescent light of 8.11 μmol/(m ² ·s), 24L:0D (140 r/min) for 30 d	[47]
<i>Leptolyngbya</i> foveolarum	42.5	30	28.5	3	/	5.15	/	Cultivation in BG-11 at 28±2 °C, white light of 44.5 μmol/(m ² ·s), 14L:10D for 8 d	[45]
<i>Leptolyngbya</i> sp.	/	/	/	7.67	/	4.75	/	Cultivation in ASN III at 25±2 °C, fluorescent white light of 10±2 W/m ² , 24L:0D for 3 d	[48]
<i>Leptolyngbya</i> sp.	/	/	/	/	/	2.03±0.56	/	Cultivation in BG-11 medium at 40 °C, fluorescent white of 30 μmol/(m ² ·s), 16L:8D	[49]

注: /: 这一项没有数据.
Note: /: No data for this item.

3 讨论与结论

从惠州地区分离得到 12 株新的嗜热蓝细菌菌株, 其中 6 株与 *Gloeocapsa* sp. PCC7428 模型菌株聚类, 而另外 6 株与目前研究较少的 *Leptolyngbyaceae* 科的分支聚类。作为后续研究对象的 2 株嗜热蓝细菌 PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 属于 *Leptolyngbyaceae*, 与被我们的研究小组描述为类 *Leptolyngbya* 属的第五簇菌株^[23]的 PKUAC-SCTA141、PKUAC-SCTA171 和 PKUAC-SCTA174 的相似度最高(相似性为 99%)。与从数据库中搜集的其他参考菌株相比, 分离菌株与目前研究较少的 *Leptolyngbya* sp. RV74 (相似性为 96%)和 *Leptolyngbya* sp. Greenland 7 (相似性为 95%)相似性较高。而 *Leptolyngbya* sp. RV74 和 *Leptolyngbya* sp. Greenland 7, 除数据库中已知的 16S rRNA 基因外, 缺乏系统的分类学研究, 并且在系统发育树上常常与大量不可培养的蓝细菌聚在一起^[23,50]。尽管分离株在数据库中与属于 *Leptolyngbya* 属的一些菌株聚类, 由于参考数据的质量不高, 我们的分离株是否实际属于 *Leptolyngbya* 属存在不确定性。此外, 根据 Schleifer^[51]的研究, 16S rRNA 基因序列相似性低于 98.7%的原核生物可以被认为是不同的种。这些结果表明, 在广东和四川的温泉中可能存在一种新型丝状轻度嗜热蓝细菌属或 *Leptolyngbya* 蓝细菌新种。*Leptolyngbya* 菌株能够将光能和二氧化碳转化为高附加值产品, 含有多糖、类胡萝卜素和藻蓝蛋白等多种高价值的生物活性物质, 还可以有药物应用和用于制备微生物肥料, 在未来应用中具有很大潜力^[7,25-28]。因此, 本研究中确定的这些 *Leptolyngbya* 菌株为未来的工作研究提供了潜在可能。

已有的关于 *Leptolyngbya* 的研究主要集中在菌株的系统发育研究方面, 对于其生理特性分析不足。本研究在分子鉴定基础上, 选取类似 *Leptolyngbya* 的 2 株嗜热蓝细菌 PKUAC-GDTS1-24

和 PKUAC-GDTS1-29 进行进一步的生产力和细胞组分研究。就菌株生产力方面, PKUAC-GDTS1-29 比 PKUAC-GDTS1-24 更有优势, 2 个菌株的生长速率分别为 0.010 g/(L·d)和 0.037 g/(L·d), 与文献报道的其他 *Leptolyngbyaceae* 相似。*Leptolyngbya* sp. KIOST-1^[26]的生长速率为 0.024 g/(L·d), *Leptolyngbya* sp. ISTCY101^[44]的生长速率为 0.680 g/(L·d), *Leptolyngbya foveolarum*^[45]的生长速率为 0.085 g/(L·d)。与这些菌株相比, PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 的生长速率与 *Leptolyngbya* sp. KIOST-1 相近, 比另外 2 种菌株慢。Kim 等表示 *Leptolyngbya* sp. KIOST-1 具有高效的生产力, 高蛋白质含量, 可用于生物质生产^[25-26]。因此, 本研究的 PKUAC-GDTS1-29 菌株生产力更高, 可以作为潜在的商业生产菌株。然而, 由于这些研究中的生长条件包括光照强度、光周期、温度、培养基都不同(表 1), 很难在没有更详细的生长优化研究情况下得出关于这些菌株生产力的绝对结论。

PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 的细胞组成中, 糖类物质是其主要组分。根据之前有关菌株细胞成分的报道, 我们比较了上述 2 株菌株与 *Leptolyngbya* BL0902^[46]、*Leptolyngbya* sp. KIOST-1^[26]的细胞组成。*Leptolyngbya* BL0902 含有 38.8%蛋白质、14.6%糖类物质和 5.8%脂质。*Leptolyngbya* sp. KIOST-1 含有 53.3%的蛋白质、24.8%的糖类物质和 11.6%脂质。然而, 我们的结果并不符合之前关于 *Leptolyngbya* BL0902 和 *Leptolyngbya* sp. KIOST-1 的报道, 这 2 种菌株的主要成分是蛋白质, 而 PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 中糖类物质是主要成分, 脂质含量更是高于 *Leptolyngbya* BL0902 或 *Leptolyngbya* sp. KIOST-1。*Leptolyngbya* sp. 菌株中灰分含量差异较大, *Leptolyngbya* BL0902 中为 10.3%, *Leptolyngbya* sp. KIOST-1 中为 37.6%。我们的菌株中灰分含量介于这 2 种菌株之间, 分别为 24.2%和 24.7%。

当以总细胞蛋白质的百分比表示时, 2 种菌株

中 PBP 含量相似, PC 是 PBP 的主要成分。APC 和 PC 的浓度超过总细胞蛋白的 0.4%, 其中 PC 含量分别为 41.90 mg/g prot 和 48.46 mg/g prot, APC 也是 2 种菌株的重要组分, 分别为 31.70 mg/g prot 和 31.55 mg/g prot。表 2 的其他菌株中, PC 和 APC 的含量显著低于我们的分离菌株, 而 PE 的含量与分离菌株相似或更高。*Leptolyngbya* sp. KC45^[47]的总藻胆蛋白含量为 181.63 mg/g DW, 其中 PE 是主要成分, 含量为 95 mg/g DW, APC 和 PC 的含量分别为 42 mg/g DW 和 44 mg/g DW。在 Singh 等^[45]的研究中, *Leptolyngbya foveolarum* 中 PC、APC、PE 的含量分别为 42.5、30.0、28.5 mg/g DW。这些结果表明藻胆蛋白在 *Leptolyngbyaceae* 不同分支菌株中存在一定差异, 但我们的分离株在藻胆蛋白生产积累方面具有明显优势, 可以作为藻蓝蛋白生产的潜在菌株。

此外, 我们对叶绿素和类胡萝卜素的含量进行了分析比较。在 PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 中, 类胡萝卜素含量分别为 65.13 mg/g DW 和 18.87 mg/g DW, 叶绿素 a 为 0.97 mg/g DW 和 0.45 mg/g DW, 叶绿素 b 为 7.46 mg/g DW 和 2.15 mg/g DW。Joshi 等^[48]报道了 *Leptolyngbya* sp. 中的叶绿素 a 浓度为 8.1 mg/g DW, 类胡萝卜素浓度为 4.5 mg/g DW。Trabelsi 等^[49]报道了 *Leptolyngbya* sp. 中类胡萝卜素含量为 2.03 ± 0.56 mg/g DW。还有研究表明 *Leptolyngbya foveolarum* 中的叶绿素 a 和类胡萝卜素含量分别为 3.0 mg/g DW 和 5.2 mg/g DW^[45]。嗜热蓝细菌 PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 中的叶绿素 a 含量明显低于表 2 中其他菌株, 但它们似乎合成了叶绿素 b, 而其他文献^[45,48]中的 *Leptolyngbyaceae* 菌株并没有此发现。PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 的类胡萝卜素的类型相似, 但叶黄素仅在 PKUAC-GDTS1-24 中发现。

综上所述, 基于 16S rRNA 基因、PhycoA 和 16S rRNA 基因+PhycoA 基因序列的系统发育分析

表明, 本研究中分离出了一组属于 *Leptolyngbyaceae* 科的轻度嗜热蓝细菌菌株, 可能是一种新型丝状轻度嗜热蓝细菌属或 *Leptolyngbya* 蓝细菌新种。为阐明其与 *Leptolyngbyaceae* 其他成员的系统发育关系还需要更深入的分类学研究。关于此类菌株, 目前的研究较少, 仅有的一些系统发育研究不足以对它们的各项特性表征, 本研究是第一次详细地研究此类菌株, 并为进一步的生产研究奠定基础。PKUAC-GDTS1-24 和 PKUAC-GDTS1-29 具有高效的生产力, 并且能够生产比其他 *Leptolyngbyaceae* 菌株更高含量的具有价值的藻胆蛋白, 可以作为潜在的生物质生产菌株, 具有良好的研究和发展前景。而且它们生长形态呈现彼此附着的厚垫状, 易于生物质收集, 这对菌株的生产应用非常有利。

REFERENCES

- [1] Vincent WF. Cyanobacteria[J]. Encyclopedia of Inland Waters, 2009, 3: 226-232
- [2] Castenholz RW. General characteristics of the cyanobacteria[A]//Boone DR, Castenholz RW. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology[M]. 2nd ed. New York: Springer-Verlag, 2001: 474-487
- [3] Castenholz RW. Isolation and cultivation of thermophilic cyanobacteria[A]//Starr MP, Stolp H, Trüper HG, et al. The Prokaryotes[M]. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1981: 236-246
- [4] Amin A, Ahmed I, Salam N, et al. Diversity and distribution of thermophilic bacteria in hot springs of Pakistan[J]. Microbial Ecology, 2017, 74(1): 116-127
- [5] Ward DM, Castenholz RW, Miller SR. Cyanobacteria in geothermal habitats[A]//Whitton BA. Ecology of Cyanobacteria II[M]. Dordrecht: Springer, 2012: 39-63
- [6] Parmar A, Singh NK, Pandey A, et al. Cyanobacteria and microalgae: a positive prospect for biofuels[J]. Bioresource Technology, 2011, 102(22): 10163-10172
- [7] Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, et al. Commercial applications of microalgae[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2006, 101(2): 87-96
- [8] Prasanna R, Sood A, Jaiswal P, et al. Rediscovering cyanobacteria as valuable sources of bioactive compounds (Review)[J]. Applied Biochemistry and Microbiology, 2010, 46(2): 119-134
- [9] Jansson C. Metabolic engineering of cyanobacteria for direct conversion of CO₂ to hydrocarbon biofuels[A]//Lüttge U, Beyschlag W, Büdel B, et al. Progress in Botany 73[M]. Berlin, Heidelberg: Springer, 2012: 81-93
- [10] Jia ZC, Liu Y, Daroch M, et al. Screening, growth medium optimisation and heterotrophic cultivation of microalgae for biodiesel production[J]. Applied Biochemistry and

- Biotechnology, 2014, 173(7): 1667-1679
- [11] Daroch M, Shao CC, Liu Y, et al. Induction of lipids and resultant FAME profiles of microalgae from coastal waters of Pearl River Delta[J]. Bioresource Technology, 2013, 146: 192-199
 - [12] Ghosh P, Adhikari U, Ghosal PK, et al. *In vitro* anti-herpetic activity of sulfated polysaccharide fractions from *Caulerpa racemosa*[J]. Phytochemistry, 2004, 65(23): 3151-3157
 - [13] Singh S, Kate BN, Banerjee UC. Bioactive compounds from cyanobacteria and microalgae: an overview[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2005, 25(3): 73-95
 - [14] Gantar M, Svirčev Z. Microalgae and cyanobacteria: food for thought[J]. Journal of Phycology, 2008, 44(2): 260-268
 - [15] Habib MAB, Parvin M, Huntington TC, et al. A review on culture, production and use of *Spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals and fish[R]. FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1034. Rome: FAO, 2008: 33
 - [16] Glazer AN, Apell GS, Hixson CS, et al. Biliproteins of cyanobacteria and Rhodophyta: homologous family of photosynthetic accessory pigments[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1976, 73(2): 428-431
 - [17] Yamanaka G, Glazer AN, Williams RC. Cyanobacterial phycobilisomes. Characterization of the phycobilisomes of *Synechococcus* sp. 6301[J]. Journal of Biological Chemistry, 1978, 253(22): 8303-8310
 - [18] Bhat VB, Madyastha KM. C-phycocyanin: a potent peroxy radical scavenger *in vivo* and *in vitro*[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2000, 275(1): 20-25
 - [19] Ge BS, Qin S, Han L, et al. Antioxidant properties of recombinant allophycocyanin expressed in *Escherichia coli*[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2006, 84(3): 175-180
 - [20] Yuan YV, Carrington MF, Walsh NA. Extracts from dulse (*Palmaria palmata*) are effective antioxidants and inhibitors of cell proliferation *in vitro*[J]. Food and Chemical Toxicology, 2005, 43(7): 1073-1081
 - [21] Li JJ, Liu Y, Cheng JJ, et al. Biological potential of microalgae in China for biorefinery-based production of biofuels and high value compounds[J]. New Biotechnology, 2015, 32(6): 588-596
 - [22] Nozzi NE, Oliver JWK, Atsumi S. Cyanobacteria as a platform for biofuel production[J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2013, 1: 7
 - [23] Tang J, Jiang D, Luo YF, et al. Potential new genera of cyanobacterial strains isolated from thermal springs of western Sichuan, China[J]. Algal Research, 2018, 31: 14-20
 - [24] Xia BM. Flora Algarum Marinarum Sinicarum-Tomus I, Cyanophyta[M]. Beijing: Science Press, 2017 (in Chinese)
夏邦美. 中国海藻志-第一卷, 蓝藻门[M]. 北京: 科学出版社, 2017
 - [25] Kim JH, Kang DH. Draft genome sequence of *Leptolyngbya* sp. KIOST-1, a filamentous cyanobacterium with biotechnological potential for alimentary purposes[J]. Genome Announcements, 2016, 4(5): e00984-16
 - [26] Kim JH, Choi W, Jeon SM, et al. Isolation and characterization of *Leptolyngbya* sp. KIOST-1, a basophilic and euryhaline filamentous cyanobacterium from an open paddle-wheel raceway *Arthrospira* culture pond in Korea[J]. Journal of Applied Microbiology, 2015, 119(6): 1597-1612
 - [27] Ling J, Dong JD, Zhang YZ, et al. New *Leptolyngbya* species scsio T-2 strain useful in preparing fertilizer for prompting nitrogen fixing in bacteria and in preparing indole-3-acetic acid: China, CN104830692A[P]. 2015-08-12 (in Chinese)
凌娟, 董俊德, 张渊洲, 等. 一株瘦丝藻 scsioT-2 及其应用: 中国, CN104830692A[P]. 2015-08-12
 - [28] Vijayakumar S, Menakha M. Pharmaceutical applications of cyanobacteria—a review[J]. Journal of Acute Medicine, 2015, 5(1): 15-23
 - [29] Markou G, Georgakakis D. Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: a review[J]. Applied Energy, 2011, 88(10): 3389-3401
 - [30] Stanier RY, Kunisawa R, Mandel M, et al. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order *Chroococcales*)[J]. Bacteriological Reviews, 1971, 35(2): 171-205
 - [31] Hindák F. Thermal microorganisms from a hot spring on the coast of Lake Bogoria, Kenya[J]. Nova Hedwigia, 2001, 123: 77-93
 - [32] Komárek J, Anagnostidis K. Cyanoprokaryota[J]. Flora del valle de Tehuacán-Cuicatlán, 2011, 90: 1-96
 - [33] Komárek J, Johansen JR. Chapter 4-filamentous cyanobacteria[A]//Wehr JD, Sheath RG, Kociolek RP. Freshwater Algae of North America[M]. 2nd ed. USA: Elsevier Inc, 2015: 135-235
 - [34] Singh OA, Oinam G, Singh KO, et al. Isolation of fresh water Cyanobacterial DNA of north east India by modified Xanthogenate method[J]. International Journal of Research in BioSciences, 2013, 2(2): 75-82
 - [35] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Molecular Biology & Evolution, 2016, 33(7): 1870-1874
 - [36] Guindon S, Dufayard JF, Lefort V, et al. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0[J]. Systematic Biology, 2010, 59(3): 307-321
 - [37] Tang J, Bromfield ESP, Rodrigue N, et al. Microevolution of symbiotic *Bradyrhizobium* populations associated with soybeans in east North America[J]. Ecology and Evolution, 2012, 2(12): 2943-2961
 - [38] Whyte JNC. Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves[J]. Aquaculture, 1987, 60(3/4): 231-241
 - [39] Lichtenthaler HK, Wellburn AR. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents[J]. Biochemical Society Transactions, 1983, 11(5): 591-592
 - [40] Gantt E, Cunningham Jr FX. Algal pigments[A]//Encyclopedia of Life Sciences[M]. USA: John Wiley & Sons Inc, 2001
 - [41] Horváth H, Kovács AW, Riddick C, et al. Extraction methods for phycocyanin determination in freshwater filamentous cyanobacteria and their application in a shallow lake[J]. European Journal of Phycology, 2013, 48(3): 278-286
 - [42] Sobiechowska-Sasim M, Stoń-Egiert J, Kosakowska A. Quantitative analysis of extracted phycobilin pigments in

cyanobacteria-an assessment of spectrophotometric and spectrofluorometric methods[J]. Journal of Applied Phycology, 2014, 26(5): 2065-2074

[43] Bennett A, Bogorad L. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga[J]. Journal of Cell Biology, 1973, 58(2): 419-435

[44] Singh J, Tripathi R, Thakur IS. Characterization of endolithic cyanobacterial strain, *Leptolyngbya* sp. ISTCY101, for prospective recycling of CO₂ and biodiesel production[J]. Bioresource Technology, 2014, 166: 345-352

[45] Singh DP, Khattar JIS, Gupta M, et al. Evaluation of toxicological impact of cartap hydrochloride on some physiological activities of a non-heterocystous cyanobacterium *Leptolyngbya foveolarum*[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2014, 110: 63-70

[46] Taton A, Lis E, Adin DM, et al. Gene transfer in *Leptolyngbya* sp. strain BL0902, a cyanobacterium suitable for production of biomass and bioproducts[J]. PLoS One, 2012, 7(1): e30901

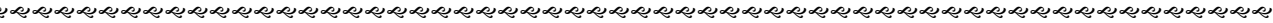
[47] Pumas C, Vacharapiyasophon P, Peerapornpisal Y, et al. Thermostability of phycobiliproteins and antioxidant activity from four thermotolerant cyanobacteria[J]. Phycological Research, 2011, 59(3): 166-174

[48] Joshi D, Mohandass C, Dhale M. Effect of UV-B Radiation and Desiccation Stress on Photoprotective Compounds Accumulation in Marine *Leptolyngbya* sp.[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2018, 184(1): 35-47

[49] Trabelsi L, Mnari A, Abdel-Daim MM, et al. Therapeutic properties in Tunisian hot springs: first evidence of phenolic compounds in the cyanobacterium *Leptolyngbya* sp. biomass, capsular polysaccharides and releasing polysaccharides[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2016, 16(1): 515

[50] Roeselers G, Norris TB, Castenholz RW, et al. Diversity of phototrophic bacteria in microbial mats from Arctic hot springs (Greenland)[J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(1): 26-38

[51] Schleifer KH. Classification of *Bacteria* and *Archaea*: past, present and future[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2009, 32(8): 533-542



2019 年中国微生物学会及各专业委员会学术活动计划表(3-2)

序号	活动名称	主办/协办单位	时间	人数	地点	联系方式
11	中国微生物学会第八届地质微生物学学术研讨会	中国微生物学会地质微生物学专业委员会	6 月 13-15 日	500	山东青岛	张晓华 13606428332
12	第四届中国放线菌生物学与产业化暨第二届微生物药物学术研讨会	中国微生物学会分子微生物学与生物工程专业委员会	7 月	300	山东青岛	李越中 0531-88564288
13	中国微生物学会微免专委会首届细菌学大会	中国微生物学会医学微生物学与免疫学专业委员会	7 月 18-22 日	200	贵州贵阳	秦金红 13524227206
14	第十三届全国病毒学研讨会	中国微生物学会病毒学专业委员会	7 月 27-30 日	1300	哈尔滨	吴莹 15901455682
15	第十七届微生物学教学和科研及成果产业化研讨会	中国微生物学会微生物教学工作委员会、农业微生物学、普通微生物学专业委员会	7-9 月	200	海南海口	王瑞萍 124481317@qq.com
16	第二十二次全国环境微生物学学术研讨会	中国微生物学会环境微生物学专业委员会	8 月下旬	600	黑龙江哈尔滨	邢德峰 18686864920
17	第八届工业企业微生物安全控制技术与实践研讨会	中国微生物学会工业微生物学专业委员会	8 月下旬	200	北京	胡育骄 010-53218310
18	2019 全国干扰素与细胞因子学术会议	中国微生物学会干扰素与细胞因子专业委员会	8 月下旬	300	广东深圳	倪健 13818096617
19	第九届全国微生物学青年学者学术研讨会	中国微生物学会普通微生物学专业委员会	9 月 20-23 日	200	重庆	王琳淇 10-64806184 廖国建 13594017530
20	第十届中国临床微生物学大会暨《医学参考报》微生物学与免疫学论坛	中国微生物学会临床微生物学专业委员会	9 月	500	福建福州	洪梅 0574-8703585
21	武汉现代病毒学国际研讨会	中国微生物学会病毒学专业委员会	9 月	300	武汉	吴莹 1590145568