

聚球藻(*Synechococcus*) 分子生态学研究进展^{*}

马 英 焦念志^{**}

厦门大学海洋环境科学教育部重点实验室, 厦门大学环境科学研究中心, 厦门 361005

摘要 蓝细菌聚球藻(*Synechococcus*)是海洋浮游植物群落的优势组分,是全球碳循环的主要参与者和初级生产力的主要贡献者,在海洋生态系统的光合作用、碳循环及食物链中扮演着举足轻重的角色.由于聚球藻在海洋生态系统中占有重要地位并且是少数几个可培养代表性海洋微生物之一,自从它被发现以来一直是人们研究的热点.目前,在聚球藻的生理、生化及系统发育研究等方面取得了一系列重要进展.在综述聚球藻分子生态学研究进展的基础上,分析了目前的研究现状,并结合作者的工作实践对未来的研究进行了展望.

关键词 聚球藻 分子生态学 16S rRNA

1 聚球藻分子生态学研究的意义

占地球面积 71% 的海洋中生活着地球上 80% 的生物类群,其中超微型光合自养原核生物——聚球藻(*Synechococcus*)是海洋蓝细菌最主要的代表性类群之一,它发现于 1979 年,是一类超微型(0.5 ~ 2 μm)球粒状光合自养原核生物^[1,2].这类极微小的球形细胞容易通过它们所含的主要色素——藻红蛋白(PE)的荧光来鉴别.聚球藻广布于世界各大洋,其数量巨大,特别是在近岸水域数量丰富.在热带和温带海洋中的丰度通常在 $10^3 \sim 10^5$ 个/mL^[3],是超微型浮游生物中的优势组分.聚球藻是全球碳循环的主要参与者和初级生产力的主要贡献者之一.研究表明,地球海洋中的聚球藻和原绿球藻(*Prochlorococcus*, 聚球藻的近缘种)每年要从大气中吸收约 1×10^{10} T 碳,相当于海洋固定大气二氧化碳总量的三分之二.此外,聚球藻在海洋微食物网中生物量循环迅速,能量转换效率高,是微型浮游动物最重要的食物源之一^[4].最近,聚球藻一个代表性菌株的全基因组序列也已得到破译^[5],是

迄今公布的首批海洋细菌基因组序列之一.通过对聚球藻和原绿球藻基因组比较研究的结果表明:与原绿球藻相比,聚球藻能够完成更多的化学反应,更善于利用海洋中的有限资源因而较原绿球藻分布更广.基因组分析还发现聚球藻似乎能够利用一些有机化合物来做为合成氮和磷的原料,这一结果意味着人们也许要重新审视海洋中这些化合物的代谢方式.

由于聚球藻在海洋生态系统中占有重要地位,对其在自然海区的种群结构、种类组成、系统发育及与环境间的关系等生态学问题进行研究,一方面对于了解聚球藻在生态环境中及在生物地球化学过程中所起作用具有重要意义,另一方面对于研究全球气候变化、可再生能源技术开发和生物多样性保护等都有重要的应用价值.此外,由于聚球藻结构简单,遗传多样性和生理、生态型丰富,且较古菌(*Archaea*)、原绿球藻(*Prochlorococcus*)等易于培养,还使得聚球藻成为微型生物生态学研究的模式种.

传统的微型生物生态学研究方法主要是通过纯

2003-12-02 收稿, 2004-03-10 收修改稿

^{*} 国家自然科学基金(批准号: 40176037, 30170189, 40232021), 国家重点基础研究发展规划(批准号: G200078500)和中国博士后自然科学基金资助项目

^{**} 通讯作者, E-mail: jiao@xmu.edu.cn

化培养,借助显微镜观察,根据生物的形态构造和生理生化特点来进行,使得对聚球藻等微生物的研究基本停留在总体计数水平,很难为其可靠的种群结构和系统发育提供证据.另一方面,许多环境微生物难以培养,Ward等^[6]报道在自然环境中90%以上微生物不能用传统的培养方法得到,且培养过程有可能会漏掉许多生态上重要的生态型或基因型,因此,环境微生物多样性在纯培养的条件下被大大低估^[7].此外,研究表明,在实验室培养条件下的许多微生物种类与自然环境中类群并不相符^[8].

分子生物学的发展使人们对微生物生态学的研究进入了一个崭新的阶段.运用分子生物学手段进行生态学研究的突出特点是不需纯化培养,可以直接分析环境样品,灵敏度高,而且由于这种分类方法是从分子水平来认识生物物种分化的内在原因和物质基础,因而更具科学性.

2 聚球藻分子生态学研究现状分析

2.1 聚球藻分子生态学研究方法

聚球藻种群结构研究是聚球藻分子生态学研究的重要内容.用分子生物学方法研究微生物种群结构的基本程序是:从分离培养样品或直接从环境样品中提取DNA或RNA,用PCR扩增特定基因序列,经克隆测序或经变性梯度凝胶电泳(DGGE)分析后克隆测序,比较序列间相似性,构建系统发育树,从而对分离培养的菌株进行鉴定或对环境样品的遗传多样性进行研究.主要有两种方式:一是纯培养研究法,指从环境样品中分离培养聚球藻纯系后再进行DNA提取、PCR扩增等分子操作.此方法的优点在于可以了解所培养菌株的生理特点;分子操作及结果分析较容易;可用于设计系统发育特异探针;设计那些需要详细生理信息的分子标记^[9],还可进行基因组测序.但有些菌株难以培养,而且,纯培养的菌株无法完全反映环境样品中的生物多样性.二是原位研究法是指直接从环境样品提取DNA进行分析.该法可以避免上述纯培养方法的一些缺点,但对PCR引物的通用性和特异性要求较高,否则在对环境样品进行PCR扩增时容易产生非特异性扩增或漏掉一些目标菌株,结果分析

也较复杂.此外,有些在环境样品中含量较少的菌株,用PCR方法往往不易扩增出来,而这些菌株在生态系统中的地位并非都不重要.

2.2 聚球藻遗传多样性研究的分子标记

目前用于聚球藻种群结构和系统发育分析的分子标记主要是原核生物核糖体小亚基(16S rRNA)基因.由于rRNA种类少、含量大(约占细菌RNA含量的80%)、分子大小适中(约1.5kb左右)、较易测序、并存在于所有的生物中,特别是其进化具有高度的保守性,故素有“细菌化石”之称.因此在系统分类学研究中,16S rRNA基因序列分析是用得最多、最成熟的技术.但16S rRNA基因变异较小,在种以下水平具有99.6%的同源性,分辨率不够,只适合于鉴定蓝细菌属间及属以上分类单位的亲缘关系,无法对彼此相近的聚球藻菌株进行细分.其次,rRNA在大多数原核生物中都具有多个拷贝,当译读PCR扩增的序列时,复数拷贝若不是相同序列就难以译读,尤其在分析环境样品时,会使DGGE的条带变得复杂,难以正确反映环境样品的真实情况.

2.3 聚球藻遗传多样性研究现状

传统分类主要依据形态如单细胞、球粒状等指标将聚球藻聚为一类,但其生理学和分子生态学研究表明,它们是多起源的而非一个自然的类群,其中很可能包含了多个种.目前依据16S rRNA等分子生物学研究资料,结合光合色素种类、生长条件和游动性等生理特性,将聚球藻分为以下几个组^[10~14]:MC-A(marine cluster A)组,含藻红蛋白,其生长需高盐(Na^+ , Cl^- , Mg^{2+} , 和 Ca^{2+})环境,在近海和大洋的透光层数量丰富,其G+C%约为55%~62%;MC-B组,含藻蓝蛋白(PC),不含藻红蛋白,多见于近岸,其G+C%约为63%~69.5%.MC-A和MC-B同属高盐(halotolerant strains)组,纯培养菌株多属此类;MC-C组,该组以其低G+C含量为显著特点,G+C%为47.5%~49.5%,它包括了半咸水或近岸海水的菌株,至今对其环境研究尚不深入,在纯培养的菌株中也较少见.

Honda^[10]以16S rDNA为标记又将MC-B和MC-C组的5个*Syenchococcus*分成3个分枝,并发

现某些菌株在进化树上的位置比较独立和分散。Robertson^[15]对 14 个分离培养聚球藻菌株的 16S rRNA, 38 个菌株的 *cpc* (藻蓝蛋白基因) 和 *cpcBA-IGS* (藻蓝蛋白亚基间隔序列) 序列分析研究结果表明, 聚球藻在蓝细菌 7 个大分枝中主要集中在 3 个遗传上差异较大、进化上截然不同的分枝中, 有些菌株不属于这 3 个分支, 它们在进化树上的位置也比较分散, 因此认为聚球藻应视为不同的属(类)。Toledo^[16], Douglas^[17]等对 *rpoCl* (RNA 聚合酶) 基因、16S rRNA 基因序列分析以及 RFLP 分析的结果均表明, 聚球藻尽管形态相似, 却并非一个自然的类群, 它们是一个多相性的分类群体。遗传上的高度多样性也反映了聚球藻是一个比较古老的属。

目前国际上对聚球藻遗传多样性的研究仅限于部分海区分离培养的菌株, 直接对环境样品进行研究还较少。聚球藻的分类还比较混乱, 尚无法完全阐明海洋蓝细菌聚球藻的遗传多样性。

3 聚球藻分子生态学研究展望

3.1 流式细胞技术与分子生物学技术相结合

流式细胞技术是海洋微生物生态学研究中最重要和最先进的技术之一。利用流式细胞技术可以根据聚球藻的大小和红色荧光将其从浮游植物中分选出来, 因而可直接对环境样品中聚球藻进行研究。最近, 我们用流式细胞仪先对自然海水样品进行分选, 得到纯种的聚球藻细胞, 加入培养液培养, 从培养的聚球藻中提取 DNA 用做 PCR 扩增的模板, 或将分选的细胞裂解后直接用作 PCR 扩增的模板(这种情况下可以用固定剂固定的较长期保存的海水), 得到了目的片段(图 1)。这种将流式细胞技术和分子生物学技术相结合的方法不仅取样简单、样品用量少(几 mL 海水)、分选速度快(可达 $10^2 \sim 10^3$ 细胞/s)、而且可以得到用普通培养方法难以分离到的菌株纯系, 也可以得到自然样品中含量极少的菌株。另一方面可以避免分析复杂的环境样品, 减少非特异扩增。还可将不同色素组成、不同色素含量和不同生态型的菌株初步分开, 更好地研究遗传差异与不同生态型、不同生理特性间的关系。因而是一种较好的分子生态学研究方法, 是当前纯培养研究法和原位研究法的一个很好的补充。

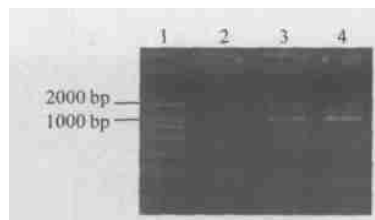


图 1 流式细胞仪(FCM)分选的聚球藻细胞 PCR 结果

1, DL-2000DNA 标志; 2, 阴性对照; 3 和 4, FCM 分选的聚球藻细胞

3.2 16S rDNA 和 16S—23S rDNA 间隔转录区及功能基因相结合研究聚球藻种群结构及系统发育

与最常用的分子标记 16S rRNA 基因相比, 16S—23S rDNA 间隔转录区(ITS 区)序列具有更大的变异性, 更适于分析遗传上非常接近的各菌株间的亲缘关系。如 Laloui^[18]的研究表明, 尽管 3 个纯培养的聚球藻菌株之间及它们与一个原绿球藻(*Prochlorococcus*)纯种之间在以 16S rDNA 为基础的系统进化树上很相近, 但它们的 ITS 区序列在长度上却相差很大, 由此推论 ITS 区的大小、序列数据及其 RFLP 将是近缘不同基因型的聚球藻菌株及其与原绿球藻间鉴定的重要标记。Rocap^[19]也做了类似研究, 发现 ITS 区的长度、G+C 含量变异很大, 可用于区分在 16S rDNA 序列上高度相似而生理上有较大差异(不同色素成分, 对光和营养的不同生长反应等)的聚球藻。我们分别用蓝细菌 16S rDNA 的引物和 16S~23S 间隔区序列引物对聚球藻纯培养菌株进行 PCR 扩增, 结果表明: 两个近岸品系(绿色)和一个大洋品系(红色)的 16S rDNA 的 PCR 产物长度完全相同, 而 ITS 区的长度不完全相同(图 2), 也说明 16S~23S rRNA 的 ITS 区比 16S rRNA 在分类上具有更高的灵敏度, 更适合于进行属内不同生态型的菌株间亲缘关系分析。两个绿色近岸品系的 16S~23S rDNA 的 ITS 区长度相同, 而与红色大洋品系长度不同, 在一定程度上还反映了不同生态型的菌株间遗传上也不同。

一些相对保守的编码蛋白的功能基因在区分遗传上相近的属内和种间的关系方面显示了比 16S rRNA 基因及其间隔序列更大的优越性。因为, 一般情况下, 蛋白编码基因在结构和功能上比保守的



图 2 不同聚球藻菌株的 16S rDNA 和 ITS 区的 PCR 扩增结果(3~5) 为 16S—23S rDNA 引物扩增产物; 6~8 为 16S rDNA 引物扩增结果

1, 阴性对照(水); 2, DL-2000 DNA 标志; 3 和 6, *Synechococcus* sp. CCMP 1379(绿色近岸品系); 4 和 7, *Synechococcus* sp. CCMP1630(绿色近岸品系); 5 和 8, *Synechococcus* sp. CCMP 839(红色大洋品系)

rRNA 基因变异更大, 因此, 在区分聚球藻属内菌株时能提供更多的遗传信息. 如聚球藻菌株 WH7805 和 WH8103 的 16S rRNA 基因间的差异是 1.4%, 而它们 *rpoC1* 基因片段的序列间差异可达 17%^[20]. 其次, 许多功能基因在原核生物基因组中是单拷贝, 可以避免因 16S rRNA 基因异质性导致对环境微生物遗传多样性的过高估计. 此外, 用蛋白编码基因研究环境微生物的遗传多样性可以减少一些非特异性扩增, 简化环境样品的复杂性, 使分析结果更为可靠. 如用藻蓝蛋白编码基因(*cpc* 基因)来研究环境样品中聚球藻的多样性可以避免许多非蓝细菌的扩增产物; 用 *rbcL* (1, 5-二磷酸核酮糖羧化酶大亚基) 基因可以去掉异养细菌的干扰等. 本实验室用蓝细菌 *rpoC1* 基因序列特异引物对中国南海环境样品 DNA 进行扩增, 得到的扩增产物中 90% 以上是蓝细菌(原绿球藻或聚球藻)的基因序列(数据尚未发表). 当然, 应当指出, 目前功能基因序列数据库中数据有限, 会给特异引物的设计及后续序列比较分析带来一定的困难. 但随着一些功能基因越来越多地用于系统发育分析和越来越多的菌株的全基因组序列被测序, 基因库的数据正在日益充实, 功能基因在分子系统学研究上将发挥更大的作用.

因此, 今后在聚球藻系统发育分析方面, 应注重用 16S~23S rDNA 的 ITS 区和功能基因等在结构或功能上变异更大序列来研究聚球藻属内各种间的关系. 此外, 由于用不同的遗传标记来研究同一

批分离培养的聚球藻纯系或同一海区的环境样品时会使各研究结果间缺乏可比性, 还应将 16S rRNA 基因、16S~23S rDNA 的 ITS 区和功能基因等多种遗传标记结合起来研究同一样品, 不仅能将不同分子标记之间的结果进行相互印证, 还能弥补各单一分子标记间的不足, 使分析结果更加可靠, 是今后遗传多样性研究的发展方向.

3.3 注重聚球藻遗传多样性与其生理特性、生态型间的关系的研究

海洋聚球藻遗传上的多样性是否与其特殊的生理适应性及不同的生态型相一致? 聚球藻不同的生理特点、不同生态型是否可以作为分类的依据? 这些问题是分子生态学研究的重要内容. 由于聚球藻较其他超微型生物易培养, 且具有丰富的生理特性(色素组成及含量)和生态型, 因而是研究这些问题的理想材料.

Toledo^[16]用 *rpoC1* 基因片段序列分析法对从加利福尼亚分离的 15 个聚球藻菌株进行分析, 结果将聚球藻分成两个主要的遗传分枝——低 PUB (phycourobilin 藻尿胆色素) 含量组和高 PUB 含量组. 其中低 PUB 组中的 6 个菌株较为一致, 与含叶绿素 b 的原绿球藻非常接近; 而高 PUB 组中的 9 个菌株差异较大, 又可细分成 3 类. 值得一提的是, 低 PUB 和高 PUB 组中均包括了表层(5m)和深层(95m)两个不同深度分离的菌株, 这与预期结果不同, 说明 PUB 含量与菌株所在深度并无必然联系, 也说明遗传上不同的聚球藻组可共存于同一深度的海水样品中. 而 Lantoine 等^[21]用荧光分光光度分析法对 PE 定量研究的结果表明, 在大洋中, 聚球藻的色素含量与菌株所在深度是相关的, 高 PUB 含量菌株存在于较深水层中, 藻尿胆色素和藻胆红素(PEB)的比值随着深度增加而增加, 并且还随着距海岸距离的增加而增加.

1999 年, Toledo^[14]研究了一组无鞭毛、可游动的聚球藻的 *rpoC1* 基因序列, 结果显示它们在遗传上非常接近, 是一个单源的组. 但是, 各菌株的藻红蛋白的发色团 PUB/PEB 比值变化很大. 其中一个菌株 CC9703 显示了与非游动菌株 WH7803 (低 PUB/PEB 的模式菌株) 一致的色素组成情况; 而另外几个运动菌株却含有较高的 PUB/PEB 值, 甚至

比高 PUB/PEB 的模式菌株——WH8103 的比值还高。说明至少在运动组的聚球藻中, PUB/PEB 比值与菌株的系统发育地位并不一致, 不宜作为研究系统发育的指标。目前, 运动型菌株 WH8102 的全基因组序列已经得到破译^[5], 将有助于我们更好地阐明这类微型生物的遗传特性与生理适应性间的关系。

Olson^[22]用流式细胞仪 (FCM) 对环境样品的藻胆蛋白荧光特性分析结果和我们的研究结果均表明: 低 PUB/PEB 菌株似乎分布于中营养区或近岸水域, 而高 PUB/PEB 菌株在贫营养区普遍存在。但是, 与上述纯培养研究得出结论类似, 色素成分与系统进化位置之间无必然联系。一般认为, 菌株不会因光质不同而改变其 PUB/PEB 的比值, 但研究表明确实有一些菌株具色素适应的能力 (如在蓝光下 PUB/PEB 比值增大), 这一特性在现有研究的非游动性菌株组中显示了较好的一致性, 但在运动性菌株中未表现出这种规律^[23]。上述研究结果说明聚球藻菌株不同色素含量可能是菌株适应不同生境而产生的生理上的差异, 这些生理上的差异有可能仅仅表现为生态型上的差异而遗传上并未发生分化, 也有可能因长期的生理上的差异导致了一些菌株产生了遗传上的差异。

Ferris^[24]用 *rpoCI* 基因序列分析法对太平洋寡营养区不同层次的聚球藻进行了研究, 结果将聚球藻划分成 8 个或更多个遗传上不同的分枝。其中有两个分枝与生态型一致, 这两个分枝内的菌株仅见于大洋表层。Rocap^[19]根据 16 S—23 S rDNA 序列差异将 MC-A 的 25 个聚球藻菌株分成 6 个分枝, 其中有 3 个分枝与其生理特性相适应 (即: 具有色素适应性, 低 PUB 含量及运动型高 PUB 含量)。但其研究同时表明, 聚球藻许多分枝中包含了从世界各地完全不同区域分离出的菌株, 暗示了它们在地理分布上的广泛性, 也说明在遗传上相近的自然群体中的聚球藻包含许多共存的生态型。

其他遗传上相关的聚球藻菌株在生理上的差异包括: 对缺氮的反应^[25]、生长中对硝酸盐或尿素的偏好性^[26]、细胞大小和生长速率^[11]、细胞周期的行为^[27]等。如 WH7803 和 WH7805 在利用氮的能力上和细胞周期行为上明显不同, 而在系统发育关系上紧密相联。尽管就这些生理特性仅对少数菌株

进行了研究, 但暗示了系统发育与某些生理特性间并无必然的关联性。这也许是因为这些生理功能上的差异赋予了聚球藻菌株适应不同环境 (光、温度、营养) 的能力或者是聚球藻菌株在自然选择的过程为适应不同的环境而产生了不同的生态型 (尽管遗传上未发生较大变化)。

目前距完全阐明聚球藻遗传多样性与其生理特性和生态型间的关系还有相当一段距离, 现有的研究也仅限于有限的几个海域的部分菌株, 且结果也不太一致。而这些问题是聚球藻生态学研究中急需阐明的、极具吸引力的问题, 对于研究聚球藻在海洋资源环境中的作用与功能具有重要意义。为了更好地研究聚球藻遗传多样性与其生理特性、生态型间的关系, 需要分离培养更多的纯培养菌株, 充分了解培养菌株的生理特征和遗传信息, 并借助越来越多的正在破译的基因组信息, 设计出更多与生理特征一致的探针, 研究不同生理、生态型菌株在环境中的自然分布, 及其与系统发育间的关系, 并尽量利用多种遗传标记来相互印证。

致谢 感谢骆庭伟提供流式细胞仪分选的聚球藻样品。

参 考 文 献

- 1 Waterbury J B, et al. Widespread occurrence of a unicellular marine phytoplankton cyanobacterium. *Nature*, 1979, 277: 293
- 2 Johnson P W, et al. Chroococcoid cyanobacteria in the sea: A ubiquitous and diverse phototrophic biomass. *Limnol Oceanogr*, 1979, 24 (5): 928
- 3 Murphy L S, et al. The distribution and abundance of phototrophic ultraplankton in the North Atlantic. *Limnol Oceanogr*, 1985, 30 (1): 47
- 4 Iturriaga R, et al. *Chroococcoid cyanobacteria*: A significant component in the food web dynamics of the open ocean. *Mar Ecol Prog Ser*, 1986, 28: 291
- 5 Palenik B, et al. The genome of a motile marine *Synechococcus*. *Nature*, 2003, 424: 1037
- 6 Ward D M, et al. Ribosomal rRNA analysis of microorganisms as they occur in Nature. *Adv Microb Ecol*, 1992, 12: 219
- 7 Suzuki M T, et al. Quantitative analysis of small-subunit rRNA genes in mixed microbial populations via 5' nuclease assays. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66 (11): 4605
- 8 Ferris MJ, et al. Enrichment culture and microscopy conceal diverse thermophilic *Synechococcus* populations in a single hot spring micro-

- bial mat habitat. *Appl Environ Microbiol*, 1996, 62 (3): 1045
- 9 Scanlan D J, et al. An immunological approach to detect phosphate stress in populations and single cells of photosynthetic picoplankton. *Appl Environ Microbiol*, 1997, 63 (6): 2411
- 10 Honda D, et al. Detection of seven major evolutionary lineages in cyanobacteria based on the 16S rRNA gene sequences analysis with new sequences of five marine *Synechococcus* strains. *J Mol Evol*, 1999, 48 (6): 723
- 11 Waterbury J B, et al. Biological and ecological characterization of the marine unicellular cyanobacterium *Synechococcus*. In: *Photosynthetic Picoplankton* (eds. Platt T, et al.), *Can Bull Fish Aquat Sci*, 1986, 214: 71
- 12 Waterbury J B, et al. The order *Chroococcales*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (eds. Krieg N R, et al.), Baltimore: Williams and Wilkins, 1989, 3: 1728
- 13 Urbach E et al. Rapid diversification of marine picophytoplankton with dissimilar light-harvesting structures inferred from sequences of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* (cyanobacteria). *J Mol Evol*, 1998, 46 (2): 188
- 14 Toledo G, et al. Swimming marine *Synechococcus* strains with widely different photosynthetic pigment ratios from a monophyletic group. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65 (12): 5247
- 15 Robertson B R, et al. Phylogenetic analyses of *Synechococcus* strains (cyanobacteria) using sequences of 16S rDNA and part of the phycocyanin operon reveal multiple evolutionary lines and reflect phycobilin content. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2001, 51 (3): 861
- 16 Toledo G. *Synechococcus* diversity in the California current as seen by RNA polymerase (rpoC1) gene sequences of isolated strains. *Appl Environ Microbiol*, 1997, 63 (11): 4298
- 17 Douglas S E, et al. Examination of genetic relatedness of marine *Synechococcus* spp. using restriction fragment length polymorphisms. *Appl Environ Microbiol*, 1988, 54 (12): 3071
- 18 Laloui W, et al. Genotyping of axenic and non-axenic isolates of the genus *Prochlorococcus* and the OMF ' *Synechococcus* ' clade by size, sequence analysis or RFLP of the internal transcribed spacer of the ribosomal operon. *Microbiology*, 2002, 148 (2): 453
- 19 Rocap G, et al. Resolution of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* ecotypes by using 16S-23S rDNA internal transcribed spacer sequences. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68 (3): 1180
- 20 Urbach E, et al. Multiple evolutionary origins of prochlorophytes within the cyanobacterial radiation. *Nature*, 1992, 355: 267
- 21 Lantoine F, et al. Phycoerythrins in the sea: Abundance and spectral diversity. In: *Marine Cyanobacteria* (eds. Charpy L, et al.), Paris: Institute Océanographique and ORSTOM, 1999, 443
- 22 Olson R J, et al. Analysis of *Synechococcus* pigment types in the sea using single and dual beam flow cytometry. *Deep Sea Res*, 1988, 35 (3): 425
- 23 Palenik B Chromatic adaptation in marine *Synechococcus* strains. *Appl Environ Microbiol*, 2001, 67 (2): 991
- 24 Ferris M J, et al. Nich adaptation in ocean cyanobacteria. *Nature*, 1998, 396: 226
- 25 Gilbert P M, et al. Clonal responses of growth and photosynthetic responses to nitrogen availability in marine *Synechococcus* spp. *J Exp Mar Biol Ecol*, 1986, 101: 199
- 26 Collier J L, et al. The marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. WH7805 requires urease (urea amidohydrolase, EC3. 5. 1. 5) to utilise urea as nitrogen source: molecular-genetic and biochemical analysis of the enzyme. *Microbiology*, 1999, 145 (2): 447
- 27 Binder B J, et al. Cell cycle regulation in marine *Synechococcus* sp. strains. *Appl Environ Microbiol*, 1995, 61 (2): 708