

2 株节旋藻的分类鉴定和磷脂脂肪酸特征分析

杜改利 汪方奎 胡 甜 王 莉 陈雯莉

华中农业大学农业微生物学国家重点实验室, 武汉 430070

摘要 利用荧光显微镜观察节旋藻 CB001 和 CB002 的菌丝形态, 同时对其 16S rDNA 序列以及在液体和固体培养条件下的磷脂脂肪酸特征进行系统分析。显微成像观察表明, CB001 和 CB002 均属于钝顶节旋藻 (*Arthrospira platensis*), 具有运动能力; 磷脂脂肪酸特征分析结果显示, 磷脂脂肪酸 16:0、16:1 w7c、18:1 w9c、18:2 w6c、14:0 anteiso 和 16:1 w7c alcohol 可能是节旋藻的代表性脂肪酸; 18:1 w5c 和 16:3 w6c 分别为 CB001 和 CB002 的特有磷脂脂肪酸组分; 同时, 不同培养方式对 CB001 和 CB002 磷脂脂肪酸组成模式具有极其显著的影响。

关键词 蓝细菌; 系统发育; 磷脂脂肪酸分析; 节旋藻

中图分类号 Q 936 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2016)06-0011-06

节旋藻 (*Arthrospira*) 和螺旋藻 (*Spirulina*) 都属于蓝藻门 (*Cyanophyta*)、蓝藻纲 (*Cyanophyceae*)、颤藻目 (*Oscillatoriales*)、颤藻科 (*Oscillatoriaceae*) 中不分化形成异形胞或者厚垣孢子的非固氮蓝细菌。作为重要的经济藻类, 长期以来节旋藻和螺旋藻在属的划分和归类上存在分歧。直到近年来, 藻类学家综合应用形态学、生理生化特征和分子生物学方法, 在节旋藻和螺旋藻的分类地位上才达成共识, 即节旋藻和螺旋藻为颤藻科 2 个独立的属。目前市场上通常所称的“螺旋藻”几乎都为节旋藻。国内外总计报道了 38 个节旋藻种, 如钝顶节旋藻 (*Arthrospira platensis*)、极大节旋藻 (*Arthrospira maxtma*)、盐泽节旋藻 (*Arthrospira subsalsa*) 等。节旋藻富含蛋白质 (50%~70% 细胞干质量), 具有丰富的营养成分和生物活性物质如 β 胡萝卜素、不饱和脂肪酸 (γ -亚麻酸)、藻蓝素、活性肽等, 对肿瘤、肝炎、艾滋病、糖尿病和高血脂等多种疾患具有显著的预防和辅助疗效^[1-2]。联合国粮农组织和世界卫生组织分别将节旋藻称为“21 世纪最理想的食物”和“人类 21 世纪最佳保健品”^[3]。

磷脂脂肪酸 (phospholipid fatty acids, PLFAs) 是活体微生物细胞膜的主要组分, 不同的微生物可以通过不同的生化途径得到不同的 PLFAs, 具有结

构多样性和生物特异性的特点^[4]。磷脂脂肪酸作为细菌特异性的化学生物标记物, 是细菌鉴定和分类研究中的重要工具, 并且已经成为大多数细菌鉴定标准方法之一。除了进行纯培养细菌的鉴定, PLFA 技术还被广泛运用于表征微生物群落生物量, 揭示群落结构多样性和功能及其变化、指示特定类群微生物丰度变化等^[5]。与传统基于培养基的微生物分离技术、生理学及分子生物学方法相比, PLFA 技术灵敏度高, 实验条件要求相对较低, 能够快速有效地获得细菌的分类学特征^[6]。

已经有不少学者开始采用脂肪酸特征对蓝细菌进行鉴定、分类和系统发育研究。如 Kenyon^[7] 早期发现和鉴定了 4 种存在于蓝细菌的脂肪酸组成类型; Murata 等^[8] 证明有部分蓝细菌脂肪酸组成类型与其形态特征有关; Gugger 等^[9] 对 22 株来自不同属的蓝细菌脂肪酸组成和含量进行了分析; Li^[10] 利用 PLFA 技术对 16 株念珠藻属蓝细菌进行了种属分类研究, 认为 PLFA 有助于蓝细菌在属、亚属, 甚至在种水平上的分类鉴定; 同时, Li 等^[11-12] 对 24 株直毛状浮游鱼腥藻和 26 株卷毛状浮游鱼腥藻开展 PLFA 分析, 结合菌株的形态特征进行分类鉴定; Shukla 等^[13] 利用 PLFA 对 12 株产异形胞蓝细菌进行分类学研究, 进一步确立了 PLFA 在蓝细菌分类

收稿日期: 2016-05-17

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31570048); 中央高校基本科研业务费专项 (2014PY003)

杜改利, 硕士研究生。研究方向: 蓝细菌分子生物学。E-mail: 1253331009@qq.com

通信作者: 陈雯莉, 博士, 教授。研究方向: 环境微生物学。E-mail: wlchen@mail.hzau.edu.cn

学上重要的应用价值。但是在节旋藻的分类鉴定和品质控制方面,PLFA 技术几乎未见报道。作为细菌磷脂脂肪酸鉴定标准平台的 MIDI sherlock 微生物鉴定系统的数据库中也未收录任何螺旋藻的信息。本研究系统分析笔者所在实验室前期保存的 2 株节旋藻 CB001 和 CB002 的磷脂脂肪酸特征,探讨不同培养方式对其磷脂脂肪酸谱的影响,旨在为 PLFA 技术在螺旋藻分类鉴定和品质控制方面的运用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 菌株与培养条件

CB001 和 CB002 来自华中农业大学农业微生物学国家重点实验室分离保存的淡水生节旋藻,采用 AM 培养基培养^[14]。菌株接种于 AM 液体培养基中,在 150 r/min、75~100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强、30 $^{\circ}\text{C}$ 持续光照培养至对数生长后期,4 000 r/min 离心收集菌体。固体培养条件下,首先将液体 AM 培养基中加入 1.5% 琼脂,制备固体平板;然后取对数期的蓝细菌菌株在平板上划线,静置于 30 $^{\circ}\text{C}$ 恒温光照培养箱(75~100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 光强)中,培养至平板上单菌落清晰可见即用无菌接种环挑取数个单菌落。

1.2 主要试剂和设备

正己烷、甲醇、甲基叔丁基醚和氯仿为色谱纯,购自美国 Sigma 公司;6 mol/L 盐酸、氢氧化钠和氯化钠购自国药集团;有机试剂均为色谱纯;*Taq* DNA 聚合酶购自南京诺唯赞生物技术有限公司。主要设备包括:Nikon Eclipse 80i 荧光显微镜、MIDI Sherlock 微生物鉴定系统等。

1.3 蓝细菌磷脂脂肪酸提取与分析

用无菌接种环粘取固体琼脂平板上的蓝细菌单菌落,收集约 40 mg 湿菌到 8 mL 螺口试管中。液体培养条件下的蓝细菌于 8 000 r/min 离心 6 min 收集菌体,取约 40 mg 湿菌到 8 mL 螺口试管中。

40 mg 蓝细菌菌体的磷脂脂肪酸提取及其甲基化采用美国冷泉港公司的 MIDI Sherlock 微生物自动鉴定系统推荐的方法。首先向含有蓝细菌的试管中加入 1 mL 皂化试剂(45 g 氢氧化钠,150 mL 甲醇和 150 mL 去离子水),沸水浴 30 min;待冷却后再加入 2 mL 甲基化试剂(325 mL 6 mol/L 盐酸,275 mL 甲醇),80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 10 min 获得脂肪酸甲酯;冷却后加入 1.25 mL 萃取试剂(200 mL 正己烷,

200 mL 甲基叔丁基醚),均匀混合 10 min,静置片刻后小心用洁净的吸管取出下层水相;接着加入 3 mL 稀碱溶液(10.8 g 氢氧化钠溶于 900 mL 蒸馏水中)和几滴饱和氯化钠溶液,快速震荡 5 min,然后迅速移取有机相到进样瓶中,密封存于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 中。

利用 MIDI Sherlock 微生物自动鉴定系统对脂肪酸甲酯进行分析。采用安捷伦 6850N 气相色谱仪为色谱平台,色谱条件如下:170 $^{\circ}\text{C}$ 起始,5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 260 $^{\circ}\text{C}$,然后以 40 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 310 $^{\circ}\text{C}$,维持 90 s;气化室温度为 250 $^{\circ}\text{C}$,检测器温度为 300 $^{\circ}\text{C}$;载气为氢气(2 mL/min),尾吹气为氮气(30 mL/min);进样体积为 1 μL ,分流比为 100:1。

1.4 蓝细菌基因组 DNA 提取与 16S rDNA 扩增

螺旋藻基因组 DNA 的提取采用基因组小提试剂盒(SK8229)(购于上海生工生物工程有限公司),具体过程按照试剂盒中的说明书进行。以基因组 DNA 为模板,通用引物 27F/1492R (27F: AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG; 1492R: TACG-GCTACCTTACGACTT)扩增各个菌株的 16S rDNA 序列,扩增条件为:95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s;56 $^{\circ}\text{C}$ 30 s;72 $^{\circ}\text{C}$ 2 min;72 $^{\circ}\text{C}$ 4 min;25 $^{\circ}\text{C}$ 1 min。经 PCR 产物纯化试剂盒(购于上海生工生物工程有限公司)回收后,连接 pMD18-T 载体(购于 TaKaRa 公司),然后送武汉擎科生物技术有限公司进行 DNA 测序。

1.5 显微镜观察

取对数生长中期的螺旋藻,利用 Nikon Eclipse 80i 荧光显微镜,在 100 $\times$ 油镜下分别对蓝细菌的形态特征进行观察。

1.6 数据分析和系统进化树的构建

获得节旋藻 16S rDNA 序列后,选取 NCBI 核酸数据库中的节旋藻分离株的 16S rDNA 序列,利用 MEGA 6.05 软件中的 Kimura2-parameter 模型构建 neighbor-joining method (NJ) 系统进化树,用自展检验(Boot-strap)估计系统进化树分支节点的置信度,自展数据集为 1 000。磷脂脂肪酸数据基于 MIDI Sherlock 微生物自动鉴定系统的数据分析模块进行分析。

2 结果与分析

2.1 CB001 和 CB002 的形态特征和分子鉴定

笔者所在课题组前期从淡水湖泊中分离获得 2 株蓝细菌 CB001 和 CB002。通过显微成像观察,

这 2 株蓝细菌呈丝状螺旋形、蓝绿色、细胞壁均匀透明(图 1)。同时,在固体培养基中培养时,CB001 和 CB002 具有明显的向四周扩增的运动特征。

对 CB001 和 CB002 的 16S rDNA 序列进行测序分析,将序列在 EzBioCloud (<http://www.ezbio-cloud.net/eztaxon>) 中进行分析,表明 CB001 和 CB002 属于极大节旋藻 (*Arthrospira maxtma*),

相似度为 100%。但是,将 CB001 和 CB002 的序列提交到 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 的核酸数据库中进行分析,最相似的菌株均为钝顶节旋藻 PCC 7345 (*Arthrospira platensis* strain PCC 7345,99%)。选取 16 株代表性的节旋藻菌株的 16S rDNA 与 CB001 和 CB002 构建分子系统进化树。如图 2 所示,CB001 和 CB002 主要与钝顶节旋

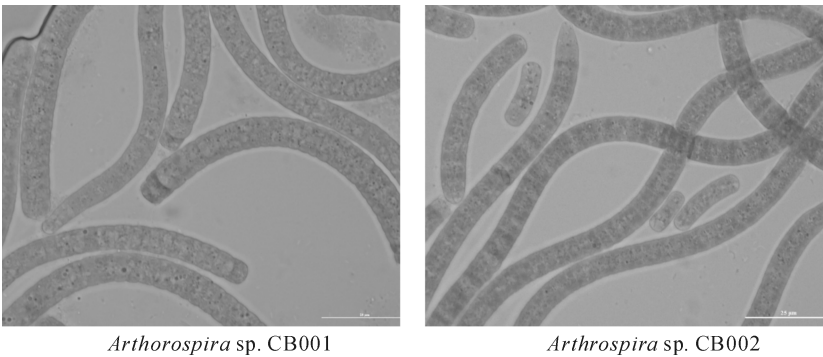


图 1 CB001 和 CB002 的菌丝形态

Fig.1 Mycelial morphology of strain CB001 and CB002

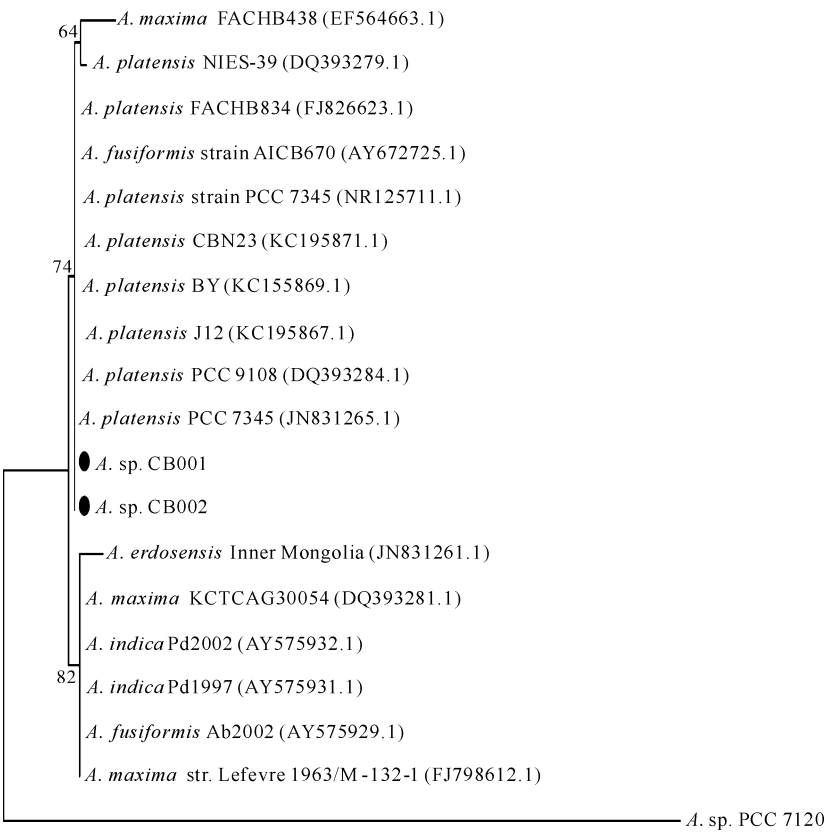


图 2 CB001 和 CB002 与 16 株节旋藻的 16S rDNA 的系统发育树

Fig.2 Neighbour-joining phylogenetic tree based on 16S rDNA gene sequences showing the relationship of strain CB001 and CB002 with 16 *Arthrospira* strains

藻聚类在一起,而与极大节旋藻处于不同的分支。据此,初步判断这 2 株蓝细菌属于节旋藻属钝顶节旋藻种,并将其分别命名为 *Arthrospira* sp. CB001 和 *Arthrospira* sp. CB002。

2.2 磷脂脂肪酸特征分析

采用 MIDI sherlock 微生物鉴定系统分别对液体和固体培养条件下培养的 CB001 和 CB002 进行磷脂脂肪酸组成分析,有 22 种磷脂脂肪酸的丰度超过 1%(表 1)。

CB001 和 CB002 的磷脂脂肪酸的组成和含量

存在显著差异(表 1)。无论是液体条件还是固体条件下,CB001 的主要磷脂脂肪酸组分包括:16 : 00 (38.99%~15.99%)、16 : 1 w7c(3.93%~1.56%)、18 : 1 w9c(6.75%~3.35%)、18 : 2 w6c(12.11%~3.87%)、18 : 3 w6c(25.34%~7.68%)、14 : 0 anteiso (6.31%~34.29%)和 16 : 1 w7c alcohol (1.11%~2.33%)。而 CB002 的磷脂组分则主要包括 16 : 00 (16.21%~25.72%)、16 : 1 w7c (1.63%~2.44%)、16 : 3 w6c(4.99%~2.72%)、18 : 1 w9c(4.51%~6.08%)、18 : 2 w6c(3.93%~

表 1 CB001 和 CB002 的磷脂脂肪酸组成特征

Table 1 Characteristics of phospholipid fatty acids composition of strain CB001 and CB002

%

磷脂脂肪酸 PLFA	脂肪酸相对含量 Relative content of fatty acids			
	CB001		CB002	
	液体 Liquid	固体 Solid	液体 Liquid	固体 Solid
饱和脂肪酸 Saturated				
10 : 00	0.00	1.84	0.00	tr
16 : 00	38.99	15.99	16.21	25.72
18 : 00	1.53	0.00	0.00	1.49
小计 Subtotal	40.63	18.9	16.21	28.7
不饱和脂肪酸 Unsaturated				
16 : 1 w6c	0.00	0.00	0.00	2.31
16 : 1 w7c	3.93	1.56	1.63	2.44
16 : 3 w6c	0.00	0.00	4.99	2.72
17 : 1 w6c	0.00	0.00	0.00	1.01
18 : 1 w3c	0.00	10.16	0.00	4.48
18 : 1 w5c	tr	7.44	0.00	0.00
18 : 1 w7c	tr	1.75	tr	2.94
18 : 1 w9c	6.75	3.35	4.51	6.08
18 : 2 w6c	12.11	3.87	3.93	6.79
18 : 3 w6c	25.34	7.68	10.05	10.8
小计 Subtotal	49.28	36.78	25.62	40.6
支链脂肪酸 Branched and hydroxy-substituted				
12 : 0 anteiso	tr	1.43	1.58	tr
13 : 0 anteiso	tr	tr	1.19	tr
13 : 0 DMA	0.00	1.2	0.00	tr
14 : 0 anteiso	6.31	34.29	47.69	18.5
16 : 1 w7c alcohol	1.11	2.33	3.27	1.75
17 : 0 10-methyl	0.00	0.00	2.05	0.00
17 : 0 anteiso	0.00	1.66	2.09	tr
18 : 1 w7c 10-methyl	1.44	tr	0.00	1.13
19 : 0 cyclo w7c	0.00	1.14	tr	1.61
小计 Subtotal	10.57	44.37	58.37	27.64

注:“tr”表示相对丰度<1%。Note:“tr” for relative abundance <1%。

6.79%)、18 : 3 w6c(10.05%~10.8%)、14 : 0 anteiso (47.69%~18.5%)、16 : 1 w7c alcohol (3.27%~1.75%)。

其中,16 : 00、16 : 1 w7c、18 : 1 w9c、18 : 2 w6c、18 : 3 w6c、14 : 0 anteiso 和 16 : 1 w7c alco-

hol 是 CB001 和 CB002 共有的高丰度磷脂脂肪酸类型,无论在液体培养条件下还是固体培养条件下均能够有效检出。18 : 1 w5c 为 CB001 特有的磷脂组分,但该组分的含量受培养条件的影响较大:在液体条件下只能痕量检出而在固体条件下培养时含量

却占7.44%。对于CB002而言,16:3 w6c则为其特有的磷脂组分,含量为2.72%~4.99%。

2.3 培养条件对CB001和CB002磷脂脂肪酸组成的影响

不同的培养条件和细胞状态将显著影响磷脂脂肪酸的组成模式。CB001和CB002菌株在液体和固体平板(固体)培养过程中,其磷脂脂肪酸的组成和丰度同样发生显著性的变化。在CB001中,14:0 anteiso组分从6.31%(液体)增加到34.29%(固体),16:00组分从38.99%(液体)减少到15.99%(固体);而18:1 w3c组分则从未能检出(液体)到固体培养条件下的高丰度检出(10.16%)。此外,18:2 w6c和18:3 w6c分别从液体培养状态的12.11%和25.34%下降到固体培养条件下的3.87%和7.68%。这表明,上述磷脂脂肪酸组分的丰度受到培养条件的显著影响。同样,在CB002菌株的不同培养模式中,18:00、16:1 w6c、17:1 w6c、18:1 w3c、18:1 w7c 10-methyl在液体培养条件(液体)下均未检测到,而在固体培养条件(S)下均可高丰度检出(1.49%、2.31%、1.01%、4.48%、1.13%);而17:0 10-methyl组分则只在液体培养条件下检出(2.05%)。在CB002中,14:0 anteiso的含量受培养方式的影响最为显著,即在液体培养条件下含量为47.69%,而在固体条件下含量降低至18.5%。这与CB001一致,表明细胞内该磷脂脂肪酸组分的合成和代谢显著受到培养条件的影响。

从磷脂脂肪酸类型上来看,CB001饱和脂肪酸含量由40.63%(液体)降至18.9%(固体),而支链及羟基化脂肪酸的含量则由10.57%(液体)增至44.37%(固体);不饱和脂肪酸的含量受培养方式的影响较小。CB002菌株中,饱和脂肪酸从16.21%(液体)增加到28.7%(固体),不饱和脂肪酸从25.62%(液体)增加到40.6%(固体),而支链及羟基化脂肪酸由58.37%(液体)下降到27.64%(固体)。这表明,这2株节旋藻的细胞磷脂脂肪酸的组成和响应环境的方式完全不同。这些特征性的脂肪酸及其变化规律将有可能作为2株节旋藻在生产和品质控制中的特异性生物标记物。

3 讨论

近年来,蓝细菌的系统分类学方法得到研究者的广泛关注,不少学者根据脂肪酸组成及含量的特征对蓝细菌在属、亚属和种水平上进行鉴定,并提

出脂肪酸可作为化学生物标记物用于蓝细菌的多相分类鉴定方法中。PLFA作为细菌分类学研究中菌种鉴定的常用方法之一,具有快速、灵敏和设备要求相对简单的特点,但是它在蓝细菌的分类鉴定中很少被提及。

本研究对前期分离获得的2株节旋藻蓝细菌进行了形态学观察、16S rDNA分析和分子鉴定,并对其在液体和固体培养条件下的磷脂脂肪酸的组成特征和变化情况进行了分析。对于CB001和CB002而言,16:00、16:1 w7c、18:1 w9c、18:2 w6c、18:3 w6c、14:0 anteiso和16:1 w7c alcohol是该类细菌的典型的高丰度磷脂脂肪酸类型,约占脂肪酸含量的70%~90%。其中,18:3 w6c是蓝细菌门的特征性脂肪酸^[15-16]。这些脂肪酸组分可能是节旋藻的代表性脂肪酸。另一方面,18:1 w5c只在固体培养的CB001细胞中高丰度地存在,而在CB002中未能检出;16:3 w6c组分没有在CB001中出现,有可能属于CB002菌株特异性磷脂(2.72%~4.99%)。

同时,作为细胞代谢的中间产物,细胞的磷脂脂肪酸组成和丰度显著受到培养条件和细胞状态的影响。在本研究中,CB001和CB002的不同脂肪酸指标对不同培养方式的响应并不一致,如CB001中14:0 anteiso在固体培养条件下的含量显著高于液体培养时的含量,由34.29%降至6.31%;而该组分在CB002中却由固体状态下的18.9%增至液体培养中的47.69%,这表明,不同菌株中的脂肪酸代谢响应规律具有菌株特异性。这种响应差异反映了菌株的代谢调控方式,可能也能反过来表征菌株的特异性,比如CB001的特征磷脂组分18:1 w5c在液体培养状态下痕量检出,在固体培养状态下却可有效检出(7.44%)。因此,细菌磷脂脂肪酸鉴定除了根据稳定的磷脂脂肪酸谱进行菌株分类以外,对于PLFA差异不显著的菌株,可能也可以通过分析其PLFA的动态变化来进行区分。

不过,对光合自养生物的磷脂脂肪酸特征及其代谢规律的研究相对较少。稳定的脂肪酸图谱或变化规律的捕获依赖于光合自养生物细胞磷脂脂肪酸的获取方式、提取技术的完善。由于MIDI sherlock微生物鉴定系统中并没有蓝细菌磷脂脂肪酸的记录,其推荐方法所涵盖的脂肪酸指标是否能够完整覆盖蓝细菌的磷脂脂肪酸还有待进一步的分析,其色谱峰也需要进一步采用GC-MS进

行确证。

参 考 文 献

[1] 胡鸿钧.国外螺旋藻生物技术的现状及发展趋势[J].武汉植物学研究,1997,15(4):360-374.

[2] 张晓.我国螺旋藻研究开发现状和展望[J].中国医药情报,1999,5(4):227-243.

[3] TAKATOMO-FUJISAWA R N,SHINOBU O,SHIGEKI E A,et al.Genomic structure of an economically important cyanobacterium, arthrospira (spirulina) platensis NIES-39[J].DNA research,2010,17(2):85-103.

[4] 包宛榆.惠州西湖浮游植物磷脂脂肪酸特征研究[D].广州:暨南大学,2011.

[5] 陈振翔,于鑫,夏明芳,等.磷脂脂肪酸分析方法在微生物生态学中的应用[J].生态学杂志,2005,24(7):828-832.

[6] WANG S G,HOU Y L.Application of phospholipids fatty acid method in soil microbial analysis[J].Microbiology,2004,31:114-117.

[7] KENYON C N.Fatty acid composition of unicellular strains of blue-green algae[J].Journal of bacteriology,1972,109:827-834.

[8] MURATA N,WADA H,GOMBOS Z.Modes of fatty-acid desaturation in cyanobacteria[J].Plant cell physiology,1992,33(7):933-941.

[9] GUGGER M L C,SUOMINEN I,TSITKO I,et al.Cellular fatty acids as chemotaxonomic marker of the genera *Anabaena*, *Apha-*

nizomenon, *Microcystis*, *Nostoc* and *Planktothrix* (cyanobacteria) [J].Int J Syst Evol Microbiol,2002,52:1007-1015.

[10] LI R.Taxonomic studies on planktonic species of *Anabaena* (cyanobacteria) [D].Tsukuba :University of Tsukuba,1998.

[11] LI R,WATANABE M M.Fatty acid profiles and their chemotaxonomy in planktonic species of *Anabaena* (cyanobacteria) with straight trichomes[J].Phytochemistry,2001,57:727-731.

[12] LI R,WATANABE M M.Fatty acid composition of planktonic species of *Anabaena* (cyanobacteria) with coiled trichomes exhibited a significant taxonomic value[J].Curr Microbiol,2004,49:376-380.

[13] SHUKLA E,SINGH S S,SINGH P,et al.Chemotaxonomy of heterocystous cyanobacteria using FAME profiling as species markers[J].Protoplasma,2012,249:651-661.

[14] ZHANG J Y,ZOU J,BAO Q,et al.A lithium-sensitive and sodium-tolerant 3'-phosphoadenosine-5'-phosphatase encoded by *halA* from the cyanobacterium *Arthrospira platensis* is closely related to its counterparts from yeasts and plants[J].Appl Environ Microbiol,2006,72:245-251.

[15] YANG D,NAM S,HWANG S J,et al.Fatty acid biomarkers to verify cyanobacteria feeding abilities of herbivorous consumers [J].Journal of freshwater ecology,2015,31:77-91.

[16] GE N.Fatty acids as trophic and chemical markers in freshwater ecosystems[M]// ARTS M T,WAINMANB C. Lipids in freshwater ecosystems.New York:Springer New York,1999:21-44.

Characterization of phospholipid fatty acid of two *Arthrospira* strains

DU Gaili WANG Fangkui HU Tian WANG Li CHEN Wenli

State Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract The morphology, 16S rDNA and phospholipid fatty acid composition of two isolates including CB001 and CB002 cultured in liquid medium and on the solid plate was studied. The result of morphology and phylogeny analysis confirmed that both CB001 and CB002 were belonged to *Arthrospira platensis*. The result of fatty acid composition analysis showed that 16 : 00, 16 : 1 w7c, 18 : 1 w9c, 18 : 2 w6c, 14 : 0 anteiso and 16 : 1 w7c alcohol were the main PLFAs in the genus *Arthrospira*. 18 : 1 w5c and 16 : 3 w6c were the characteristic PLFA of strain CB001 and CB002, respectively. The PLFA patterns of both CB001 and CB002 were affected significantly by culture conditions. Further application of PLFA technique could be used to identify and classify *Arthrospira*, or estimate biomass or purity in large-scale bacterial proliferation.

Keywords cyanobacteria; phylogeny; phospholipid fatty acid; *Arthrospira*