

滇池微囊藻沉降细胞生理特性及沉降比率动态变化研究

李杰^{1,2}, 丁涛¹, 郑凌凌¹, 李林¹, 宋立荣^{1*}

(1. 中国科学院水生生物研究所淡水生态与生物技术重点实验室, 武汉 430072; 2. 中南大学生物科学与技术学院, 长沙 410013)

摘要 通过比较滇池漂浮细胞与沉降细胞生理活性差异, 比较表层水样与底层水样沉降比率、活细胞的比例, 揭示沉降细胞的生理特征, 进而调查沉降比率与叶绿素 a 含量的动态变化, 探讨藻细胞沉降与微囊藻水华发展趋势的关系。野外水样在室内放置 2 h 后, 漂浮细胞与沉降细胞在水柱中基本稳定。沉降细胞 PS II 的最大光化学效率、细胞膜完整性与漂浮细胞无显著性差异 ($p > 0.05$), 但沉降细胞电子传递速率、尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸(磷酸) [NAD(P)H] 依赖型氧还脱氢酶活性显著低于漂浮细胞 ($p < 0.01$)。比较表层样品与底层样品, 底层样品沉降比率显著高于表层样品 ($p < 0.01$), 噻唑蓝(MTT)阴性细胞比率也显著高于表层样品 ($p < 0.01$)。这些结果表明, 沉降细胞受到损伤, 代谢活性下降。在 2007 年 10 月~2008 年 5 月研究期间内, 表层水样沉降比率在冬季最高达 40%, 沉降比率的动态变化与水体叶绿素 a 浓度变化呈负相关 ($p < 0.05$)。藻细胞的沉降是微囊藻水华衰退的重要原因, 沉降比率的研究将有助于了解水体微囊藻水华发生发展, 沉降细胞生理特性研究为将沉降比率引入微囊藻水华发展趋势预测提供了理论依据。

关键词 微囊藻; 沉降; 漂浮; 氧还脱氢酶; 滇池

中图分类号: X52 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2010)03-0667-06

Physiological Character and the Ratio of the Sinking *Microcystis* in Lake Dianchi

LI Jie^{1,2}, DING Tao¹, ZHENG Ling-ling¹, LI Lin¹, SONG Li-rong¹

(1. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 2. School of Biological Science and Technology, Central South University, Changsha 410013, China)

Abstract Aimed to explore the relationship between *Microcystis* cells sinking and water bloom development, the physiological status of the sinking cells was characterized by comparing with the floating cells. The sinking ratio and the 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) staining were also employed in surface and bottom samples to substantiate the character. The dynamics of the sinking ratio and the chlorophyll a concentration were also compared. The field *Microcystis* cells had relative stable positions in the sample container after 2 hours settlement in the lab. Statistic analysis suggested that the floating and the sinking colonies did not differ significantly on the indicators maximum quantum yield of PS II and membrane integrity ($p > 0.05$), but did significantly on the electron transfer rate and nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate), reduced disodium salt [NAD(P)H] dependent oxidoreductase and dehydrogenase activities ($p < 0.01$). Furthermore, comparison between bottom samples and surface samples suggested the bottom had higher ratio of sinking and MTT negative cells ($p < 0.01$). These results implied that the sinking cells were injured and had lower metabolic activity. During the time from October 2007 to May 2008, the sinking ratio reached climax about 40% in winter, and a negative correlation between the sinking ratio and chlorophyll a concentration was observed ($p < 0.05$). Sinking played an important role in the decline of *Microcystis* bloom. A research on the sinking ratio will be helpful for the understanding of bloom development tendency. The characterization on the physiology status of sinking cells constructed basement for the introduction of sinking ratio to the prediction of water bloom development.

Key words *Microcystis*; sinking; floating; dehydrogenases; Lake Dianchi

浮游植物的沉降与水体密度、黏滞系数、藻细胞的形状、直径、密度等有关。当水体无垂直对流时, 浮游植物沉降速率遵守 Stokes 法则^[1,2]。蓝藻细胞在垂直空间的运动, 如上浮、下沉或达到平衡状态主要与细胞密度有关。当有机体密度 $\rho' >$ 水体密度 ρ , 细胞下沉, 反之细胞上浮。细胞的主要组成成分糖类、蛋白质、糖脂、核酸, 密度均大于水, 其积累将使细胞下沉。蓝藻的伪空胞只允许气体通过, 因而伪空胞

密度小于水, 蓝藻主要通过细胞内伪空胞和碳水化合物含量调节细胞密度^[3~5]。伪空胞的壁很坚固, 水压几乎不能改变其体积, 但压力一旦超过其上限, 伪

收稿日期 2009-05-04; 修订日期 2009-07-20

基金项目 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2008CB418006); 中国科学院重大交叉项目(KZCX1-YW-14-1)

作者简介 李杰(1982~), 男, 博士, 主要研究方向为藻类生理生态学, E-mail: lijiehust@126.com

* 通讯联系人, E-mail: lrsong@ihb.ac.cn

空胞就会不可逆的破裂.淡水蓝藻的细胞膨压通常在 $0.1 \sim 0.6 \text{ MPa}$ 之间,微囊藻伪空胞的临界压较高,在 $0.6 \sim 1.1 \text{ MPa}$ 之间.当将培养物从低光转入高光,碳水化合物含量增加会导致鱼腥藻伪空胞破裂,但未见微囊藻伪空胞破裂,微囊藻主要通过碳水化合物含量的变化调节昼夜浮力变化^[1,6].

微囊藻在春季复苏,从水体底部进入水体,到秋季又沉降到水体底部越冬,为来年复苏提供种子^[7,8].细胞沉降也是许多湖泊微囊藻水华秋季衰退的重要因子^[9].在 6~8 月,日本 Kasumigaura 湖微囊藻沉降速率仅 $0.0045 \text{ m} \cdot \text{d}^{-1}$,到 9 月和 10 月沉降加速,分别为 0.02 和 $0.24 \text{ m} \cdot \text{d}^{-1}$ ^[10].荷兰 Nieuwe Meer 湖,夏季微囊藻占优势,但在底层沉降收集装置中比例较小,到 9、10 月则相反,水柱中微囊藻生物量下降,底层微囊藻生物量比例增加^[11].在 Quitzdorf 水库,表层占优势的微囊藻化学型组成到秋季季末在水体底部也占优势^[12],这都表明沉降在微囊藻水华秋季衰退过程中起着重要作用.

野外水样置于实验室静置沉降后,一部分藻细胞聚集到容器表面,称为漂浮细胞;一部分则沉入容器底部,称为沉降细胞,仅少部分细胞悬浮于容器表层底层中间.有关藻细胞沉降国内外研究多集中于研究藻细胞沉降的原因,环境因子引起藻细胞垂直迁移或沉降的作用机制^[13],野外藻细胞垂直迁移的生态学意义等^[6,14].有关沉降细胞与漂浮细胞生理活性代谢能力差异及沉降比率与水华发展趋势相互关系少有研究.本研究选用滇池微囊藻水华样品,通过自然沉降,获得漂浮细胞与沉降细胞,比较了两类细胞生理活性差异,旨在揭示沉降细胞生理特征,探索沉降比率在水华预测中应用的可能性.对沉降细胞数量在水柱中所占比例动态变化的了解,将有助于了解水体藻类生长状况,预测微囊藻水华发展趋势.

1 材料与方法

1.1 样品采集

水样在 2007 年 10 月~2008 年 5 月采集于滇池北部福保湾沿岸,点位分别为 A 点($N 24^{\circ}55'36.7''$, $E 102^{\circ}41'26.2''$)和 B 点($N 24^{\circ}55'36.4''$, $E 102^{\circ}41'25.1''$).A 处水深 1.7 m ,B 处水深约 2.5 m .A 点靠近岸堤,B 点靠近湖心.浮游植物网收集表层微囊藻,获得水体表层样品,沉入水体底部的微囊藻采用沉降装置收集,沉降装置呈圆柱形,高 50 cm ,直径 5 cm ,在 A、B 点分别置于水下 1.2 m 、 2 m 处.距装

置底部 8 cm 处有一小孔,装置上层水样经此小孔流净后,小孔以下剩余水样称为底层样品.沉降装置放入水体 48 h 取出.根据后续实验需要对表层样品与底层样品中的漂浮细胞与沉降细胞生理特征进行分析.

1.2 漂浮细胞沉降细胞自然沉降稳定时间

为了解漂浮细胞沉降细胞自然沉降稳定时间,分别测定放置 2、6、10、12、24 和 48 h 时样品沉降细胞比率.样品摇匀后室温自然光照置于 25 mL 玻璃比色管中静置分层,到相应的时间点,将 10 mL 刻度线以下的藻液分别转入另一支 25 mL 玻璃比色管中定容到 25 mL .比色管直径为 15 mm .对定容后的水样超声将微囊藻群体细胞打散(400 W ,工作 3 s ,间隙 2 s 2 次,宁波新芝 JY92-II 超声波细胞粉碎机),血球计数板细胞计数.沉降比率 = (10 mL 刻度线下细胞总数/刻度管内细胞总数) $\times 100\%$.

1.3 光合作用测定

使用浮游植物荧光仪(Phyto-PAM, Walz 公司,德国)检测漂浮细胞与沉降细胞光合系统 II(PS II)在饱和脉冲光强下叶绿素荧光值的变化,计算 PS II 的最大光化学效率 F_v/F_m 和电子传递速率^[15].

1.4 MTT 和 Evan's Blue 染色

MTT 法测定藻细胞 NAD(P)H 依赖型氧还脱氢酶活性^[16],MTT 法染色强度因此反映了细胞内 NAD(P)H 依赖型氧还脱氢酶活性高低.伊文思蓝(Evan's Blue)染色反映细胞膜完整性.细胞丧失 NAD(P)H 依赖型氧还脱氢酶活性,细胞膜破裂,均意味着细胞不能存活,2 种方法因此广泛应用于测定细胞生命力.2 种染色方法及相应的生命力计算参考文献[17].

在比较漂浮细胞与沉降细胞 MTT 染色差异实验中,对细胞内积累的甲臍进行了量化,反映 MTT 染色强度. $250 \mu\text{L}$ 样品与 $60 \mu\text{L}$ MTT 贮存液混合后,于 35°C 培养箱中反应 1 h ,测定 A_{556} 吸收值,同时测定样品中微囊藻细胞浓度,以比率 A_{556} /微囊藻细胞数反映 MTT 染色强度^[17].

1.5 叶绿素 a 含量测定

叶绿素 a 采用 90% 丙酮提取,具体测定方法参照 SL88-199 水利部水文局水环境监测中心标准.

1.6 数据分析

采用 SPSS 14.0 比较漂浮细胞与沉降细胞生理活性,进行了配对 T 检验;比较表层样品底层样品沉降比率等的差异,进行了方差分析.对样品沉降比率与叶绿素 a 含量动态变化的关系进行了相关分

析.所有分析 $p < 0.05$ 时结果显著, $p < 0.01$ 时,结果极显著.

2 结果与分析

2.1 漂浮细胞沉降细胞自然沉降稳定时间

野外表层水样带回实验室静置 0.5 h 后,即可观察到水样明显分层,但水柱表面与容器底部之间仍有少量小群体悬浮.放置 2 h,大部分细胞在水柱中的位置趋于稳定.尽管放置 2 h 的测定结果比放置 48 h 的测定结果高 1.7% (图 1),但考虑到野外样品浮游动物摄食及藻细胞自身裂解对实验结果的影响,后续研究沉降比率在放置 2 h 后即开始测定,漂浮细胞沉降细胞也分别在放置 2 h 后吸出用于生理特征分析.

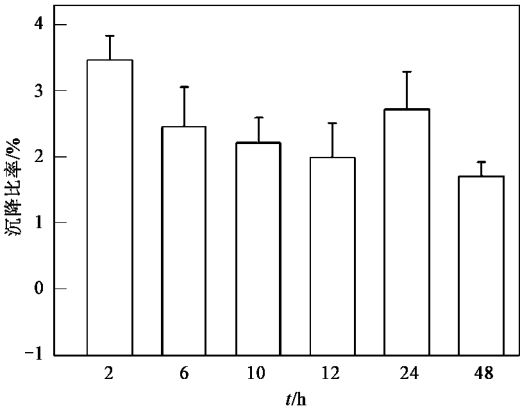


图 1 沉降时间对沉降比率的影响

Fig. 1 Effect of the time on the ratio of the sinking

2.2 漂浮细胞与沉降细胞形态、光合活性、生命力比较

冬夏两季,滇池水体微囊藻均处于明显的优势地位,微囊藻优势度达 95% 以上,夏季具少量盘星藻、三角鼓藻等,冬季具少量浮颤藻等.野外表层水样带回实验室静置后,将获得的漂浮细胞与沉降细胞分开,置于其他容器中观察.初步观察发现,漂浮细胞呈绿色,沉降细胞略偏黄.显微镜下观察,沉降细胞也以微囊藻为优势种,沉降细胞中观测到的微囊藻形态在漂浮细胞中都有发现,这表明沉降细胞中微囊藻的沉降并非由于与漂浮细胞中微囊藻种属不同所致.漂浮细胞中微囊藻大部分具有完整的细胞结构形态,个别群体微囊藻细胞解体.沉降中的微囊藻具细胞结构的群体大部分具有明显的伪空胞,Evan's Blue 染色呈阳性的细胞也即细胞膜完整性改变的细胞也具有大量的伪空胞,微囊藻细胞的沉

降可能与伪空胞无关.在沉降细胞中,细胞解体的群体数量稍高于漂浮细胞,部分群体内部细胞之间无清晰界限,群体胶被边缘模糊.

沉降细胞与漂浮细胞 PS II 的最大光化学效率 F_v/F_m 无显著性差异 ($p > 0.05$, $n = 5$),但沉降细胞光合作用电子传递速率显著低于漂浮细胞 ($p < 0.05$, $n = 5$,图 2).在光合有效辐射为 35 742 lx 时,冬季样品漂浮细胞电子传递速率为 $50.05 \mu\text{mol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s})^{-1}$,而沉降细胞电子传递速率为 $26.25 \mu\text{mol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s})^{-1}$,仅是漂浮细胞的 52%;在此光强下,夏季沉降细胞电子传递速率为漂浮细胞的 60%.这表明沉降细胞光合系统 II 受到了损伤.

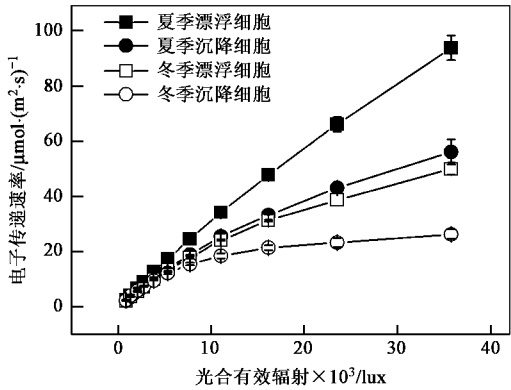


图 2 沉降细胞漂浮细胞电子传递速率比较

Fig. 2 Comparison of electron transfer rate between floating and sinking cells

Evan's Blue 染色表明沉降微囊藻中膜完整性改变细胞比例稍高于漂浮细胞,但无显著性差异 ($p > 0.05$, $n = 5$).沉降微囊藻 MTT 阳性细胞比率比漂浮细胞低 ($p < 0.01$, $n = 5$),且 MTT 染色浅,MTT 分光光度法也证实了这一点 ($p < 0.01$, $n = 5$,图 3),沉降细胞 MTT 染色强度仅漂浮细胞的 67%,表明沉降微囊藻 NAD(P)H 依赖型氧还脱氢酶活性下降.

综合前述结果,沉降细胞光合系统活性受损,NAD(P)H 依赖型氧还脱氢酶活性降低,沉降藻细胞生理活性受到损伤,代谢活性下降.

2.3 表层样品底层样品沉降比率、MTT 法、Evan's Blue 法染色结果比较

对实验周期内采集的 20 个表层样品与 14 个底层样品进行统计分析,底层样品沉降比率显著高于表层样品 ($p < 0.01$,图 4),底层获得的微囊藻细胞再悬浮后更易沉降.表层样品与底层样品 Evan's Blue 法染色结果无显著差异 ($p > 0.01$,图 5),但底层样品 MTT 阳性细胞比率显著低于表层样品 ($p <$

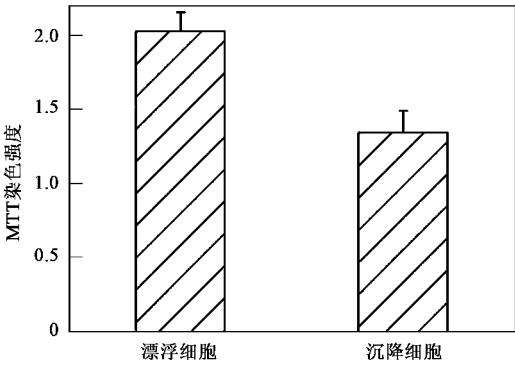


图3 沉降细胞漂浮细胞 MTT 染色强度比较
Fig.3 Comparison of MTT staining intensity between floating and sinking cells

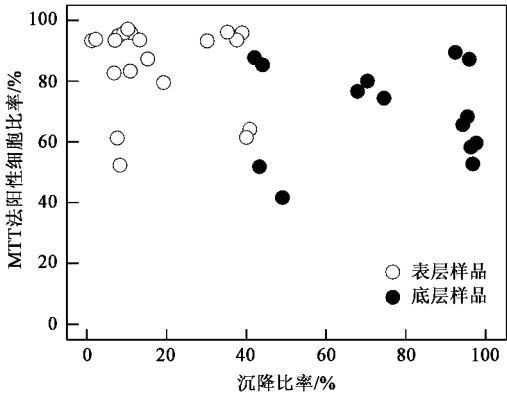


图4 表层样品底层样品沉降比率、MTT 阳性细胞比率
Fig.4 Comparison of sinking and MTT positive ratios between surface and bottom samples

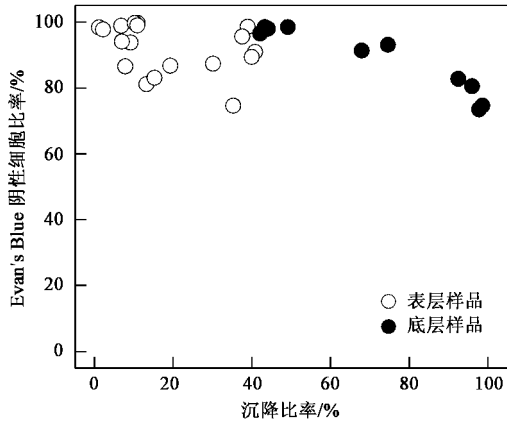


图5 表层样品底层样品 Evan's Blue 阴性细胞比率
Fig.5 Comparison of Evan's Blue negative ratios between surface and bottom samples

酶活性下降. 这一结果进一步表明沉降微囊藻细胞代谢活性下降.

2.4 滇池叶绿素 a 浓度与沉降比率动态变化

在实验周期内,除 2008 年 3 月下旬至 4 月底,滇池北部 A 点与 B 点水华束丝藻大量生长外,其他时间段微囊藻是滇池绝对优势种. 到 2007 年 11 月底 12 月初,表层叶绿素 a 含量仍维持上升趋势,由 10 月底的 $0.11\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 上升到 11 月底的 $0.19\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,之后开始急剧下降,至 1 月上旬下降减缓并维持在 $0.04\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右,直至 3 月中旬叶绿素 a 含量再次上升(图 6). 表层微囊藻沉降比率动态变化呈现相反的趋势,在 2007 年 11 月底 12 月初降至最低,仅 6% 的微囊藻沉降,之后随着叶绿素 a 含量下降沉降比率上升,最高达 40%,及至 3 月中旬表层叶绿素 a 含量上升,沉降比率再次下降. 5 月 19 日,沉降比率仅 2%,但受风浪的影响,A 点与 B 点叶绿素 a 浓度偏低. 统计分析表明,野外微囊藻沉降比率动态变化与表层叶绿素 a 含量变化呈显著负相关(Spearman 相关系数 -0.426 $p<0.05$, $n=22$).

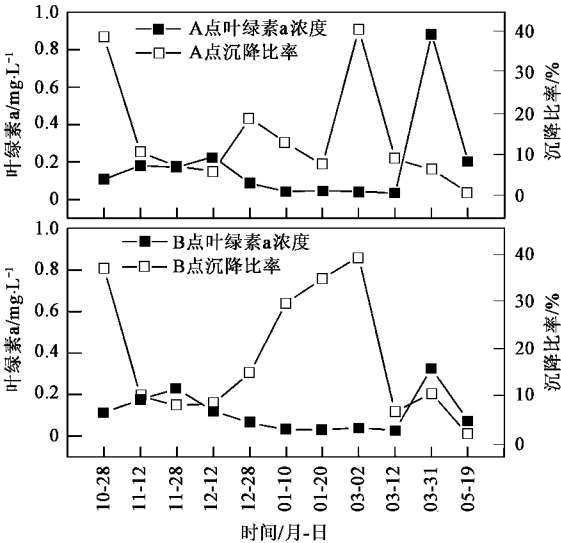


图6 滇池 A、B 点叶绿素 a 含量与沉降比率动态变化
Fig.6 Dynamics of chlorophyll a content and ratio of sinking at A site and B site in Lake Dianchi

3 讨论

大量的实验室和野外数据都表明,微囊藻能够调控自身在水柱中的位置^[6]. 夜间,铜绿微囊藻群体在湖面聚集,而上午水层表面群体密度下降约 50%. 在英国 Barton 湖风速 $<4\text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ 时,微囊藻于 09 :00、16 :00 在水体表层聚集^[18]. 在本研究中,样

0.01,图 4),意味着底层样品中丧失 MTT 还原能力的细胞更多,沉降细胞 NAD(P)H 依赖型氧还脱氢

品采集至实验室,摇匀后静置,细胞明显分成漂浮细胞与沉降细胞。样品采回实验室后,实验室光强远低于野外光强,微囊藻可能处于低光限制状态,同时前人的研究表明,低光限制条件下微囊藻可能会一直处于漂浮状态^[5]。在本研究中沉降细胞一周内未观察到显著上浮,沉降细胞在实验室条件下已丧失了自我再悬浮能力。

在本研究中,沉降中的微囊藻具细胞结构的群体大部分具有明显的伪空胞,膜完整性发生改变的细胞也具有伪空胞,这与 Reynolds 等^[19]的研究结果一致,他们发现沉降中的微囊藻群体细胞也具有充足的伪空胞。野外微囊藻的沉降可能与伪空胞的变化关系不大,这也与微囊藻伪空胞临界膨压高,主要通过调控碳水化合物含量调节浮力的观点一致。Visser 等^[11]的研究结果也认为,秋季微囊藻群体沉降主要是由蛋白合成速率下降,糖原含量增加引起。

微囊藻细胞的沉降可能由多方面的原因引起。微囊藻常在水体表层形成水华,水体表层营养盐被快速耗尽,细胞易处于营养胁迫状态。Brookes^[20]、Spencer^[21]和 Chu^[13]等的研究结果都表明,微囊藻细胞的浮力与营养状态有关。此外,在水体表层容易受到高光限制,细胞光合系统受损,细胞趋于沉降^[22-23]。在冬季,温度急剧下降,细胞代谢活性下降,细胞内含物增加特别是糖的积累是微囊藻沉降比率增加的主要原因^[24]。细胞沉降比率的增多,间接反应了微囊藻生长条件的恶化。

NAD(P)H 依赖型氧还脱氢酶包括一大类催化生物氧化还原反应的酶,其催化反应需要辅酶 NAD 或 NADP 的参与^[25]。蓝藻 NAD(P)H 依赖型氧还脱氢酶在质膜与类囊体膜上均有分布,分别介导呼吸和光合循环电子传递,该酶介导的电子传递还参与无机碳转运系统的能化/活化,在抵御光氧化胁迫,对盐胁迫的适应等生理过程中发挥作用^[26-27]。细胞 NAD(P)H 依赖型氧还脱氢酶活性下降甚至丧失,同时光合作用电子传递速率下降,在与其他健康细胞的竞争中处于不利地位。这部分细胞趋于沉降有利于剩余健康细胞的生长繁殖及为了躲避强光照进行的垂直迁移。沉降细胞在水体底部被分解,经微生物作用释放的营养也将部分缓解表层细胞间的营养竞争。少量未被分解的细胞,代谢活性下降进入休眠状态,有可能成为来年微囊藻水华的种源^[28]。

藻细胞的沉降是微囊藻水华衰退的重要原因^[12],对藻细胞沉降能力的动态了解,有助于预测水华衰退,且大部分细胞在沉降后死亡,在预测水华

衰退过程中具有时间优势。在本研究中,沉降细胞光合系统受损、NADH 氧还脱氢酶活力下降,代谢活性下降,野外微囊藻沉降比率动态变化与表层叶绿素 a 含量变化呈显著负相关。这一结论对于微囊藻水华发展趋势预测有着潜在应用价值。但野外条件影响因素众多,如本研究中提及的风浪,一方面使微囊藻实现水平输移,另一方面风浪搅动水体底部泥沙,导致表层健康细胞絮凝沉降,在沉降比率较低情况下,水体叶绿素 a 浓度下降。对于沉降比率与水体叶绿素 a 含量变化的相互关系,笔者将进一步研究。

4 结论

(1)水样在室内放置 2 h 后,漂浮细胞与沉降细胞在水柱中基本稳定。

(2)沉降细胞电子传递速率显著低于漂浮细胞,NAD(P)H 依赖型氧还脱氢酶活性仅是漂浮细胞活性的 67%,沉降细胞代谢活性下降。

(3)沉降比率与叶绿素 a 浓度动态变化呈负相关。

参考文献:

- [1] Reynolds C S, Oliver R, Walsby A E. Cyanobacterial dominance in dynamic lake environments: the role of buoyancy regulation [J]. N Z J Mar Freshwater Res, 1987, **21**: 379-390.
- [2] 刘建康. 高级水生生物学 [M]. 北京: 科学出版社, 1999. 182-185.
- [3] 成慧敏, 邱保胜. 蓝藻的伪空泡及其对蓝藻在水体中垂直分布的调节 [J]. 植物生理学通讯, 2006, **42**(5): 974-980.
- [4] Walsby A E. Gas Vesicles [J]. Annu Rev Plant Physiol, 1975, **26**: 427-439.
- [5] Oliver R L. Floating and sinking in gas-vacuolate cyanobacteria [J]. J Phycol, 1994, **30**(2): 161-173.
- [6] Bormans M, Sherman B S, Webster I T. Is buoyancy regulation in cyanobacteria an adaptation to exploit separation of light and nutrients? [J]. Mar Freshw Res, 1999, **50**(8): 897-906.
- [7] Preston T, Stewart W D P, Reynolds C S. Bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* overwinters on sediment surface [J]. Nature, 1980, **288**: 365-367.
- [8] Brunberg A K, Blomqvist P. Benthic overwintering of *Microcystis* colonies under different environmental conditions [J]. J Plankton Res, 2002, **24**(11): 1247-1252.
- [9] Reynolds C S. Loss process in the population dynamics of phytoplankton maintained in closed systems [J]. J Plankton Res, 1982, **4**: 561-600.
- [10] Takamura N, Yasuno M. Sedimentation of phytoplankton populations dominated by *Microcystis* in a shallow lake [J]. J Plankton Res, 1988, **10**(2): 283-299.
- [11] Visser P M, Ibelings B W, Mur L R. Autumnal sedimentation of *Microcystis* spp. as result of an increase in carbohydrate ballast at reduced temperature [J]. J Plankton Res, 1995, **17**(5):

- 919-933.
- [12] Welker M , Sejnohová L , Nemethova D , *et al.* Seasonal shifts in chemotype composition of *Microcystis* sp. communities in the pelagial and the sediment of a shallow reservoir [J]. *Limnol Oceanogr* , 2007 , **52**(2) :609-619.
- [13] Chu Z , Jin X , Yang B , *et al.* Buoyancy regulation of *Microcystis flos-aquae* during phosphorus-limited and nitrogen-limited growth [J]. *J Plankton Res* , 2007 , **29**(9) :739-745.
- [14] Beckmann A , Hense I. Torn between extremes : the ups and downs of phytoplankton [J]. *Ocean Dynam* , 2004 , **54**(6) :581-592.
- [15] Maxwell K , Johnson G N. Chlorophyll fluorescence-a practical guide [J]. *J Exp Bot* , 2000 , **51**(345) :659-668.
- [16] Berridge M V , Herst P M , Tan A S. Tetrazolium dyes as tools in cell biology : New insights into their cellular reduction [J]. *Biotechnol Annu Rev* , 2005 , **11** :127-152.
- [17] Li J , Song L. Applicability of the MTT assay for measuring viability of cyanobacteria and algae , specifically for *Microcystis aeruginosa* (Chroococcales , Cyanobacteria) [J]. *Phycologia* , 2007 , **46**(5) :593-599.
- [18] Hunter P D , Tyler A N , Willby N J , *et al.* The spatial dynamics of vertical migration by *Microcystis aeruginosa* in a eutrophic shallow lake : A case study using high spatial resolution time-series airborne remote sensing [J]. *Limnol Oceanogr* , 2008 , **53**(6) :2391-2406.
- [19] Reynolds C S , Jaworski G H M , Cmiech H A , *et al.* On the annual cycle of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* Kutz. Emend. Elenkin [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* , 1981 , **293** :419-477.
- [20] Brookes J D , Ganf G G. Variations in the buoyancy response of *Microcystis aeruginosa* to nitrogen , phosphorus and light [J]. *J Plankton Res* , 2001 , **23**(12) :1399-1411.
- [21] Spencer C N , King D L. Regulation of blue-green algal buoyancy and bloom formation by light , inorganic nitrogen , CO₂ , and trophic level interactions [J]. *Hydrobiologia* , 1987 , **144**(2) : 183-191.
- [22] Zhao H J , Tan J F. Role of calcium ion in protection against heat and high irradiance stress-induced oxidative damage to photosynthesis of wheat leaves [J]. *Photosynthetica* , 2005 , **43**(3) :473-476.
- [23] Long S P , Humphries S , Falkowski P G. Photoinhibition of photosynthesis in nature [J]. *Annu Rev Plant Biol* , 1994 , **45**(1) :633-662.
- [24] 金相灿 , 储昭升 , 杨波 , 等. 温度对水华微囊藻及孟氏浮游蓝丝藻生长 , 光合作用及浮力变化的影响 [J]. *环境科学学报* , 2008 , **28**(1) :50-55.
- [25] 徐小琳 , 徐岩 , 穆晓清. NAD(P) 依赖型氧化还原酶分离纯化技术进展 [J]. *工业微生物* , 2005 , **35**(1) :49-54.
- [26] 邓勇 , 叶济宇 , 米华玲 , 等. 集胞蓝藻 PCC6803 含疏水亚基的 NAD(P)H 脱氢酶亚复合体的分离 [J]. *生物化学与生物物理学报* , 2003 , **35**(8) :723-727.
- [27] 王鹏 , 沈允钢 , 米华玲. 还原型二(三) 磷酸吡啶核苷酸 [NAD(P)H] 脱氢酶复合体及叶绿体呼吸研究进展 [J]. *植物生理与分子生物学学报* , 2007 , **33**(2) :91-100.
- [28] 陶益 , 孔繁翔 , 曹焕生 , 等. 太湖底泥水华蓝藻复苏的模拟 [J]. *湖泊科学* , 2005 , **17**(3) :231-236.