

铜绿微囊藻各生长阶段毒素释放的动态规律

段静波 刘文清 张玉钧 赵南京 王志刚 殷高方 肖雪 方丽

(中国科学院安徽光学精密机械研究所中国科学院环境光学与技术重点实验室, 安徽 合肥 230031)

摘要 利用 BG-11 培养基对铜绿微囊藻进行 100 d 左右的实验室培养,研究了铜绿微囊藻不同生长阶段藻毒素 MC-LR 释放的动态变化规律。结果表明:BG-11 培养基培养的铜绿微囊藻叶绿素 a 浓度最大值出现的时间比外藻毒素 MC-LR 浓度最大值出现的时间提前约 10 d;铜绿微囊藻在各自不同生长阶段表现出一定的外藻毒素 MC-LR 释放的动态规律,即对数期时叶绿素 a 浓度和 MC-LR 浓度呈现正相关,稳定期前期叶绿素 a 和 MC-LR 浓度呈现负相关,衰亡期叶绿素 a 降低,而 MC-LR 浓度则先增加后降低。这种规律性可能与细胞体内色素释放到培养基中催化外藻毒素 MC-LR 的光降解的特性有着密切联系。对实验室培养的纯种产毒铜绿微囊藻各生长阶段叶绿素 a 浓度和外藻毒素 MC-LR 浓度进行了线性拟合,为进一步利用叶绿素 a 浓度粗略估计水体藻毒素 MC-LR 浓度提供理论依据。

关键词 测量;铜绿微囊藻;藻毒素

中图分类号 O433.4 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/AOS201333.s130002

Dynamic Law of Microcystin Released by Microcystis Aeruginosa in Different Growth Periods

Duan Jingbo Liu Wenqing Zhang Yujun Zhao Nanjing Wang Zhigang
Yin Gaofang Xiao Xue Fang Li

(Key Laboratory of Environmental Optics and Technology, Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Hefei, Anhui 230031, China)

Abstract Microcystis aeruginosa is cultivated in BG-11 medium and nature water for 100 d. Dynamic law of microcystic toxins MC-LR released by microcystis aeruginosa in different growth phrases is studied. The results show: the chlorophyll-a concentration maximum of microcystis aeruginosa appears 10 d earlier than the MC-LR concentration maximum, whatever algal is cultivated in BG-11 culture medium and nature water. Similar dynamic laws showe in both culture medium are that chlorophyll-a concentration and MC-LR concentration are positively corelated in the logarithmic period and negatively correlated in the stabilization period, and chlorophyll-a concentration reduces while MC-LR concentration first increases, then decreases in the decline period. This regularity maybe closely linked to the characteristics that pigment in vivo cells released into medium could catalytic MC-LR photodegradation. The linear relationship from fitting between the chlorophyll-a concentration and MC-LR concentration, of purebred microcystis aeruginosa cultivated in laboratory condition, is used to provide a basis of approximately estimating microcystic toxins MC-LR concentration by chlorophyll-a concentration of water.

Key words measurement; microcystis aeruginosa; microcystin

OCIS codes 300.1030; 300.6540; 300.6550

1 引 言

藻水华爆发是我国目前以及今后较长时期内都

将面临的重大水环境问题之一。蓝藻水华会释放出多种藻毒素,以微囊藻产生的微囊藻毒素(MC)为

收稿日期: 2012-12-26; **收到修改稿日期**: 2013-01-26

基金项目: 国家 863 计划(2009AA063005,2013AA065502)、安徽省杰出青年科学基金(1108085J19)、安徽省自然科学基金(11040606M26)和安徽光机所所长基金(Y03AG31144)资助课题。

作者简介: 段静波(1986—),女,博士研究生,主要从事水体有毒污染物监测方面的研究。E-mail: jbduan@aiofm.ac.cn

导师简介: 刘文清(1954—),男,研究员,博士生导师,主要从事环境光学与光谱学监测技术及仪器等方面的研究。

E-mail: wqliu@aiofm.ac.cn (通信联系人)

主,其中又以 MC-LR、MC-RR、MC-YR 存在较为普遍,含量相对较高。目前认为藻毒素的产生与否主要是由环境因素的影响或藻种自身的基因组成所决定的^[1]。蓝藻水华产生的藻毒素严重威胁着人类和动物的身体健康以及饮用水的安全。近年来,淡水湖泊中由藻毒素引起的水生动物、畜类以及人类中毒乃至死亡的事件频繁发生,发生的地点遍布世界各地,最引人关注的是 1996 年 Jochimsen 等报道的巴西血透中心出现的严重中毒事故,其中 126 个病人中 116 人出现恶心、呕吐等神经系统中毒症状,2 个月后 60 人死亡^[2],这是因为生产渗透液的水源含有 MC,MC 进入病人血液循环后引起了急性肝损伤。大量研究表明,微囊藻毒素作用的靶器官主要为肝脏,会引起肝脏大面积出血、坏死、肿胀、瘀血、肝体比重增加、肝细胞结构破坏。微囊藻毒素还被认为是潜在的促肿瘤剂,可以引导肿瘤的发生,是一种新的致癌物^[3]。通过对我国原发性肝癌的流行病学研究发现,我国肝癌高发区大多集中在东南沿海市县。原发性肝癌的发生率与这些地区的部分居民曾经长期饮用受到不同浓度的 MCs 污染的沟塘水、河水等浅表水有关,并且与 MCs 含量呈正相关。在澳大利亚等发达国家,Falconer 的研究亦发现,居民胃肠道肿瘤的发生可能与蓝藻毒素污染有关^[4]。世界卫生组织(WHO)推荐的《饮用水水质标准》饮用水中规定的微囊藻毒素 MC-LR 最高限值为 1.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ ^[5]。我国新颁布施行的《生活饮用水卫生标准》(GB 5749-2006)中规定的 MC-LR 最高限制也为 1.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ ^[6]。由于藻毒素对人类健康造成的严重威胁,藻毒素 MC-LR 已经被列为饮用水的常规项目进行监测。然而,目前藻毒素的测量主要还依赖实验室完成,具体的方法有化学测定法(HPLC、NMR、SPR^[7]、LC/MS、GC/MS、MMPB^[8]等)、生物化学法(ELISA^[9])和分子生物学方法(PCR)^[10],这些测定方法均复杂繁琐、成本高昂,不能进行快速连续测量,无法满足饮用水安全保障实时快速的监测要求。因此,如何快速判断和预警由藻毒素引发的饮用水安全事故就成为环境领域一个亟待解决的问题。

人们对于蓝藻水华暴发与饮用水安全预警已有多年的研究,且在藻类叶绿素 a 浓度的快速检测和预警方面已有一定成果,王志刚等^[11]研究了基于活体荧光光谱的浮游植物分类测量方法,研发了浮游植物水下原位荧光仪,实现了藻类浓度的实时在线分类测量;杨松芹^[12]通过分析各理化指标与总藻细胞密度、叶绿素浓度、蓝藻细胞密度等指示之间的

关系,进而建立藻类污染预测模型;日本科学家利用人工神经网络对 Kasumigaura 湖研究结果显示,叶绿素 a 的浓度可以表征藻类的总叶绿素 a 浓度并可以对藻类水华进行预测。但是,针对蓝藻水华产生的藻毒素污染的快速检测及预警技术一直未取得重要进展^[13]。近年来,有学者提出利用藻类浓度判断藻毒素的思路^[12]。但对于藻类叶绿素 a 浓度与藻毒素释放量间的动态关系尚不明确。本文研究了藻类各生长阶段叶绿素 a 浓度与藻毒素含量间的动态变化规律,以藻类浓度的变化特征为基础,为进一步开展自然水体藻毒素的预警提供理论依据。

2 材料与方法

2.1 藻种培养

铜绿微囊藻(FACHB-905),购自中国科学院水生生物研究所。藻类培养:取温度为 25 $^{\circ}\text{C}$;光照度为 200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$;光暗比为 14 h/10 h 的光照培养箱中;以 BG-11 为培养基,选取对数期的藻种接种于 250 mL 锥形瓶中培养。每天摇动培养瓶一次,同批培养 80 个样,隔一定天数取样测定,每次取两个平行样。通过改变光照培养箱的荧光灯数量以及培养瓶在培养箱中的位置,按照实验要求调节光强,尽量保持光强一致。

2.2 仪器

HP300G 型智能光照培养箱(武汉瑞华仪器设备有限公司)、Supelc 防交叉干扰自动固相萃取装置、500 mg/3 mL Supelco En-vi C18 固相萃取小柱、MNT-2800 W 氮吹仪(天津奥特赛恩斯)、Angilent1200 高效液相色谱、C18(5 μm , 4.6 mm \times 25 mm)色谱柱、岛津 UV-2550 紫外可见分光光度计、甲醇(色谱纯,天津市大茂化学试剂厂/TEDIA 公司)、三氟乙酸(TFA,化学纯,天津市光复精细化工试剂公司)、丙酮(分析纯,上海苏懿化学试剂有限公司)、MC-LR 标准样品(北京伊普瑞斯有限公司)。

2.3 测量方法

2.3.1 藻类叶绿素 a 的测定

对藻类叶绿素 a 浓度的测定选用丙酮萃取法,即丙酮提取叶绿素后,用紫外可见分光光度计对叶绿素 a 的浓度进行测定。分别读取 750、663、645、630 nm 波长的吸光度,并以 90% 丙酮做空白吸光度测定,对样品吸光度进行校正,通过公式计算即可得到叶绿素 a 的浓度值^[14]。

2.3.2 藻毒素 MC-LR 的测定

1) 样品的预处理: 首先将培养的藻液用抽滤瓶过滤; 再通过固相萃取装置富集, 依次用 10 mL 纯净水、10 mL 质量分数为 10% 甲醇和 10 mL 质量分数为 20% 的甲醇淋洗, 用 10 mL 含质量分数为 0.1% 三氟乙酸的甲醇洗脱固相萃取小柱; 最后在 40 °C 下用氮吹浓缩器浓缩, 加质量分数为 50% 甲醇溶液定容至 200 mL;

2) 利用高效液相色谱对藻毒素进行测定: 色谱柱温度取 40 °C; 流动相为甲醇与磷酸盐缓冲溶液按体积比 (57:43) 混合; 流速为 1 mL/min; 检测器取波长为 238 nm 的二极管阵列检测器^[15]。

3 结果与分析

3.1 BG-11 培养基培养的铜绿微囊藻生长阶段划分

3.1.1 铜绿微囊藻在培养期间叶绿素 a 浓度的动态变化

BG-11 培养基培养的铜绿微囊藻叶绿素 a 浓度的动态变化关系如图 1 方块形符号曲线所示。由图 1 可知, 叶绿素 a 浓度在 4~9 d、43~55 d 的期间

内增长速度较快, 在 9~43 d、55~67 d 的期间内增长速度较平缓, 在 67~97 d 期间内降低。这可能是因为采用培养基培养铜绿微囊藻, 基底营养丰富, 藻种完成了两个生活周期的生长 (对数期 1-稳定期 1-对数期 2-稳定期 2-衰亡期), 具体变化趋势如图 2 所示。

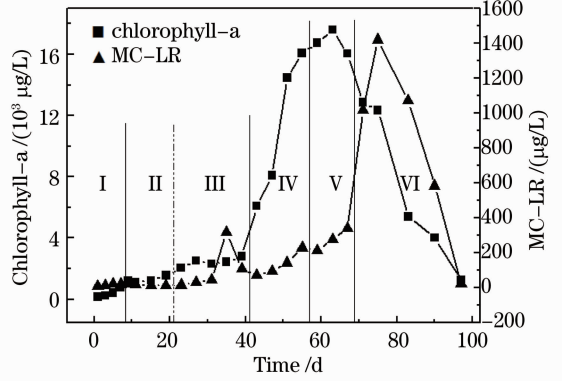


图 1 BG-11 培养基中铜绿微囊藻叶绿素 a 浓度和藻毒素 MC-LR 浓度的动态变化图

Fig. 1 Dynamic law of chlorophyll-a concentration and MC-LR concentration released by microcystis aeruginosa cultivated in BG-11 medium

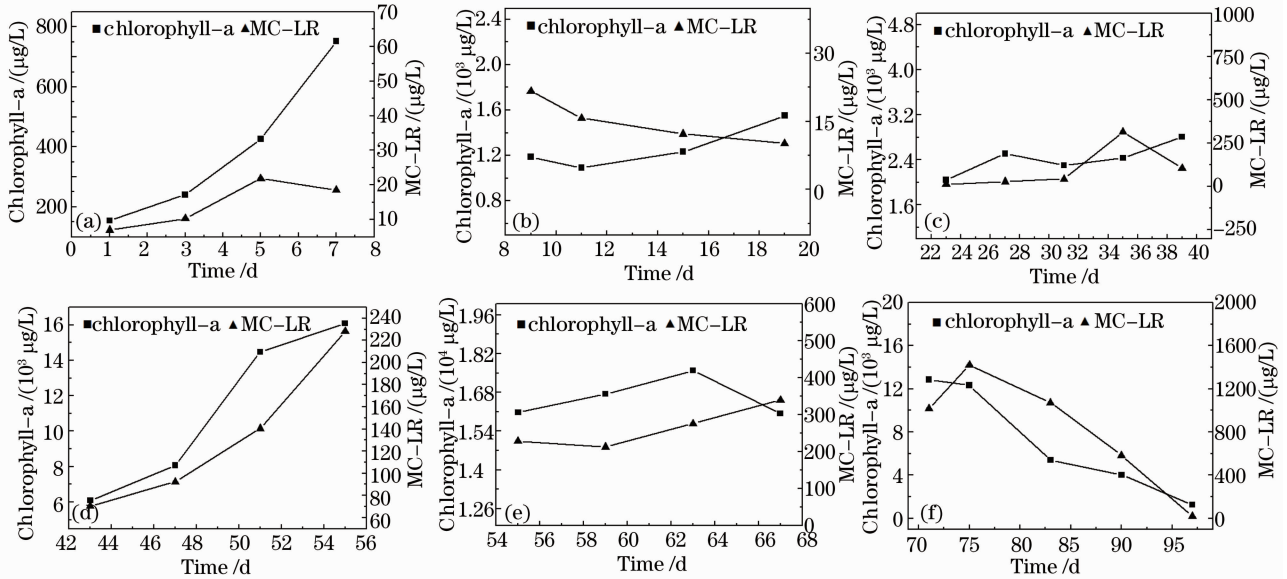


图 2 BG-11 培养基中铜绿微囊藻叶绿素 a 浓度与藻毒素 MC-LR 浓度的动态变化。(a) 对数期-1, 即 I 阶段; (b) 稳定期-1, 即 II 阶段; (c) 稳定期-1, 即 III 阶段; (d) 对数期-2, 即 VI 阶段; (e) 稳定期-2, 即 V 阶段; (f) 衰亡期, 即 IV 阶段

Fig. 2 Dynamic law of chlorophyll-a concentration and MC-LR concentration released by microcystis aeruginosa cultivated in BG-11 medium in different growth periods. (a) Logarithmic period-1, namely stage I; (b) stabilization period-1, namely stage II; (c) stabilization period-1, namely stage III; (d) logarithmic period-2, namely stage VI; (e) stabilization period-2, namely stage V; (f) decline period, namely stage IV

3.1.2 铜绿微囊藻在培养期间藻毒素 MC-LR 浓度的动态变化

LR 浓度的动态变化关系如图 1 三角形符号曲线所示, 铜绿微囊藻藻毒素 MC-LR 浓度在 4~9 d、43~67 d 期间内缓慢增加, 在 9~19 d 期间内缓慢降低,

BG-11 培养基培养的铜绿微囊藻藻毒素 MC-

在 19~43 d、67~97 d 期间内先增加后降低,具体变化趋势如图 2 所示。

根据铜绿微囊藻培养期间叶绿素 a 浓度与藻毒素 MC-LR 浓度的变化情况对藻种的生长阶段进行划分, BG-11 培养基培养的铜绿微囊藻可划分为: 1~9 d 为对数期-1, 即 I 阶段; 9~43 d 为稳定期-1, 又可分为两部分, 即 II 阶段和 III 阶段; 43~55 d 为对数期-2, 即 VI 阶段; 55~67 d 为稳定期-2, 即 V 阶段; 67~97 d 为衰亡期, 即 IV 阶段。

由图 1 可知, BG-11 培养基培养的铜绿微囊藻叶绿素 a 浓度最大值出现的时间较外藻毒素 MC-LR 浓度最大值出现的时间提前 10 d 左右, 这为利用叶绿素 a 浓度预测实验室培养的纯种产毒铜绿微囊藻产生的外毒素 MC-LR 浓度提供可能性。

3.2 铜绿微囊藻叶绿素 a 浓度与藻毒素 MC-LR 浓度的动态变化

图 2 给出了 BG-11 培养基培养的铜绿微囊藻各生长阶段叶绿素 a 值与藻毒素 MC-LR 浓度之间的动态变化关系。由图可知, 两者在培养的各个阶段均表现出一定的变化规律。在 I 阶段[如图 2(a)所示], 叶绿素 a 值呈现对数增长趋势, 藻毒素的浓度也随之增加, 二者呈现正相关关系。说明原本处于对数期的铜绿微囊藻藻种对新环境的适应能力极强, 不需经过传统的适应期即可进行对数生长。

在 II 阶段[如图 2(b)所示], 叶绿素 a 值增长缓慢, 浓度保持相对稳定; 藻毒素 MC-LR 浓度呈现降低趋势, 二者呈现负相关关系。可能的原因是铜绿微囊藻生长进入稳定初期, 藻种细胞分裂能力降低, 部分藻种死亡, 藻体破裂, 藻细胞内物质包括一定浓度的体内色素释放出来, 进入培养基。色素通常被认为是一种光敏剂, 在复合紫外光或日光照射下, 对降解具有促进作用。叶绿素在有氧的条件下, 可进行光氧化而产生自由基。叶绿素光化学反应的活性中间体单线态氧(1O_2) 和羟基自由基($\cdot OH$), 可与叶绿素吡咯链作用而进一步产生过氧自由基和其他自由基, 显著破坏 MC-LR 分子中的 Adda 基团的 β 、 γ 双键, 而导致 MC-LR 氧化、光降解, 从而使得 MC-LR 浓度降低^[16,17]。此时, 死亡的藻种细胞很少, 细胞破裂释放到培养基中的体内藻毒素含量较低, 另外色素对藻毒素的催化降解作用, 使得藻毒素 MC-LR 浓度降低^[16]。

在 III 阶段[如图 2(c)所示], 叶绿素值基本不变; 藻毒素 MC-LR 浓度先增加后降低。这是因为铜绿微囊藻的生长进入稳定期, 藻种细胞的生长和

衰亡呈现动态平衡, 即较 II 阶段, 死亡的藻种细胞大量增加, 释放出大量的细胞体内藻毒素, 而释放的色素对藻毒素的降解速度小于细胞破裂藻毒素的增加速度, 因此表现为藻毒素 MC-LR 浓度增加。随着培养天数的增加, 色素催化降解藻毒素的总量增加, 死亡细胞的数量减少, 最终表现为藻毒素 MC-LR 浓度的降低。

在 VI 阶段[如图 2(d)所示], 叶绿素值再次呈现对数增加, 藻毒素 MC-LR 浓度快速增长, 二者呈现正相关关系。这是因为培养基中营养物质丰富、温度、光照适宜、生长空间充足、死亡细胞释放出的部分有害物质也被降解, 生长条件优越, 非常适合藻类生长, 因此铜绿微囊藻表现出二次对数生长。

在 V 阶段[如图 2(e)所示], 叶绿素值趋于稳定, 基本保持不变; 藻毒素的浓度增加。铜绿微囊藻的生长进入第二个稳定期, 藻种细胞的生长和衰亡呈现动态平衡, 较 II 阶段, 藻细胞数大量增加, 死亡的细胞数也有一定增加, 释放到培养基中的细胞内藻毒素大量增加, 覆盖第一世代中的 II 阶段, 与 III 阶段前半部分的增长趋势相同。

在 IV 阶段[如图 2(f)所示], 叶绿素值下降; 藻毒素 MC-LR 浓度先增加后降低。此阶段藻毒素 MC-LR 浓度的变化方式与 III 阶段类似, 这是因为铜绿微囊藻的生长进入衰亡期, 藻细胞停止分裂, 不断死亡, 藻细胞破裂, 大量藻毒素释放到培养基中, 细胞破裂藻毒素的增加速度大于释放的色素对藻毒素的降解速度, 从而表现为藻毒素 MC-LR 浓度增加。随着培养时间的增加, 释放的色素浓度逐渐加大, 色素催化降解藻毒素的总量增加, 色素对藻毒素的降解速度大于细胞破裂藻毒素的增加速度, 最终藻毒素 MC-LR 浓度降低。

3.3 铜绿微囊藻叶绿素 a 浓度与藻毒素 MC-LR 浓度的相关性

对 BG-11 培养基培养的铜绿微囊藻各生长阶段叶绿素 a 浓度与藻毒素 MC-LR 浓度相关性进行分析, 结果如表 1 所示。表中 y 为藻毒素 MC-LR 质量浓度(单位为 $\mu g/L$); x 为叶绿素质量浓度(单位为 $\mu g/L$); Σ_{MC-LR}/N 为藻类某一生长阶段藻毒素浓度的平均值, R 为相关系数, d_{sd} 为标准差, N 为样本数, P 为可信度。因为稳定期期间, 叶绿素 a 浓度和外藻毒素 MC-LR 浓度基本保持不变, 不分析二者相关性, 外藻毒素浓度用该期间内采样点的 MC-LR 浓度平均值表示。

表 1 BG-11 培养基培养铜绿微囊藻各生长阶段叶绿素 a 浓度与藻毒素 MC-LR 浓度的相关性
Table 1 Relationship of the chlorophyll-a concentration and MC-LR concentration of microcystis aeruginosa cultivated in BG-11 medium in different growth periods

Growth period	Σ_{MC-LR}/N	Linear regression equation
I	---	$y = 4.6x + 2.85$ ($R = 0.86$, $d_{sd} = 4.324$, $N = 4$, $P = 0.139$)
II	14.96	-----
III	101.62	-----
IV	---	$y = 0.01x - 15.97$ ($R = 0.92$, $d_{sd} = 33.45635$, $N = 4$, $P = 0.079$)
V	263.84	-----
VI	---	$y = 0.09x + 88.75$ ($R = 0.869$, $d_{sd} = 321.7$, $N = 6$, $P = 0.02449$)

由表 1 铜绿微囊藻各生长阶段叶绿素 a 浓度与藻毒素 MC-LR 浓度相关性分析可知：

1) BG-11 培养基培养的 I、IV 阶段：铜绿微囊藻的生长进入对数期，藻毒素 MC-LR 浓度随着藻类叶绿素 a 浓度的增加而增加，存在明显的线性关系。铜绿微囊藻 I、IV 阶段叶绿素 a 浓度与藻毒素 MC-LR 浓度回归方程分别为 $y = 4.6x + 2.85$ 和 $y = 0.01x - 15.97$ ($R = 0.92$, $d_{sd} = 33.45635$, $N = 4$, $P = 0.079$)；可以根据藻类叶绿素 a 浓度的值粗略估计实验室培养的纯种产毒铜绿微囊藻的 MC-LR 浓度；

2) BG-11 培养基培养的 II、III、V 阶段：铜绿微囊藻的生长进入稳定期，藻类叶绿素 a 浓度基本不变，藻毒素 MC-LR 浓度先降低后增加，基本保持稳定，不存在明显的线性关系。该阶段不分析二者相关性，外藻毒素浓度用该期间内采样点的 MC-LR 浓度平均值表示；

3) BG-11 培养基培养的 VI 阶段：铜绿微囊藻的生长进入衰亡期，藻毒素 MC-LR 浓度随着藻类叶绿素 a 浓度的降低呈现出先增加后降低的变化趋势，期间可以得到藻类释放到水体中的藻毒素含量的最大值，可以根据该值粗略估计实验室培养的纯种产毒铜绿微囊藻的 MC-LR 浓度的最大值。

4 结 论

1) 测量了由 BG-11 培养基培养的铜绿微囊藻在整个生长期间的叶绿素 a 值以及外藻毒素 MC-LR 浓度，并以此作为依据对藻种的生长阶段进行划分。将以 BG-11 培养基为基底的生长期划分为 4 个时期、6 个阶段。由铜绿微囊藻的叶绿素 a 浓度和外藻毒素 MC-LR 浓度的动态变化关系图可知，实验室培养的纯种产毒铜绿微囊藻叶绿素 a 浓度最大值出现的时间比外藻毒素 MC-LR 浓度最大值出现的时间提前 10 d 左右，为利用叶绿素 a 浓度粗略

估计水体中外藻毒素 MC-LR 浓度提供可能性。

2) 分析铜绿微囊藻各生长阶段的叶绿素值以及外藻毒素 MC-LR 浓度的动态规律发现，对数期时叶绿素 a 和外藻毒素 MC-LR 浓度呈现正相关，稳定期前期对数期时叶绿素和外藻毒素 MC-LR 浓度呈现负相关，衰亡期叶绿素值降低，而藻毒素 MC-LR 浓度则先增加后降低。这种规律性可能与细胞体内色素释放到培养基中催化外藻毒素 MC-LR 的光降解的特性有着密切联系。

3) 通过对铜绿微囊藻各生长阶段的叶绿素 a 和外藻毒素 MC-LR 浓度进行线性拟合，认为可以由叶绿素 a 浓度粗略估计在实验室条件下培养的纯种产毒铜绿微囊藻产生的外藻毒素 MC-LR 浓度，为进一步开展自然水体中藻毒素 MC-LR 浓度预警提供理论依据。

参 考 文 献

- Li Xiaoyu, Song Lirong, Liu Yongding. The production, detection and toxicology and microcystins [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1999, **23**(5): 517~523
李效宇, 宋立荣, 刘永定. 微囊藻毒素的产生、检测和毒理学研究[J]. *水生生物学报*, 1999, **23**(5): 517~523
- Xie Ping. A review on the studies related to the effects of microcystins on human health [J]. *J. Lake Sciences*, 2009, **21**(5): 603~613
谢平. 微囊藻毒素对人类健康影响相关研究的回顾[J]. *湖泊科学*, 2009, **21**(5): 603~613
- Zhang Ping, Zhong Rugang. Research progress on the mechanism of microcystin induced cancer [J]. *Carcinogenesis, Teratogenesis & Mutagenesis*, 2009, **21**(1): 70~73
张萍, 钟儒刚. 微囊藻毒素诱发癌症的作用机制研究进展[J]. *癌变·畸变·突变*, 2009, **21**(1): 70~73
- Yan Xiaowen, Lin Xiao. Research progress on microcystin harm [J]. *Jiangsu J. Prev. Med.*, 2008, **19**(4): 84~85
燕晓雯, 林晓. 微囊藻毒素危害研究进展[J]. *江苏预防医学*, 2008, **19**(4): 84~85
- E. I. Chorus, J. Bartram. *Toxin Cyanobacteria in Water: A Guide to Their Public Health Consequences, Monitoring and Management* [M]. London: Gtseer, 1999
- Standardization Administration of China. GB-T 5749-2006 Standards for Drinking Water Quality [S]. Beijing: China Standard Press, 2006

- 国家标准化管委员会. GB-T 5749-2006 生活饮用水卫生标准 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2006
- 7 Wang Xiaoping, Zhan Shuyue, Luo Zhaofeng *et al.*. Research of surface plasmon resonance immunoassay method for microcystin-LR in surface water [J]. *Acta Optica Sinica*, 2012, **32**(2): 0212005
王晓萍, 詹舒越, 罗昭锋等. 地表水微囊藻毒素的表面等离子体共振免疫检测方法研究[J]. *光学学报*, 2012, **32**(2): 0212005
- 8 Kunimitsu Kaya, Tomoharu Sano. Total microcystin determination using erythro-2-methyl-3-(methoxy-d₃)-4-phenylbutyric acid (MMPB-d₃) as the internal standard [J]. *Analytica Chimica Acta*, 1999, **386**(1-2): 107~112
- 9 F. S. Chu, X. Huang, R. D. Wei *et al.*. Production and characterization of antibodies against microcystins [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1989, **55**(8): 1928~1933
- 10 Pan Hui, Song Lirong, Liu Yongding *et al.*. Characterization of toxic water bloom-forming cyanobacteria by modified PCR [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2001, **2**(25): 159~166
潘卉, 宋立荣, 刘永定等. 水华蓝藻产毒特性的PCR检测法[J]. *水生生物学报*, 2001, **2**(25): 159~166
- 11 Wang Zhigang, Liu Wenqing, Zhang Yujun *et al.*. The phytoplankton classified measure based on excitation fluorescence spectra technique [J]. *China Environmental Science*, 2008, **28**(4): 329~333
王志刚, 刘文清, 张玉钧等. 基于激发荧光光谱的浮游植物分类测量方法[J]. *中国环境科学*, 2008, **28**(4): 329~333
- 12 Yang Songqin. Characterization and Establishment of Early Warning System of Microcystin [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2007. 1
杨松芹. 微囊藻毒素分离鉴定及藻类污染预警系统的研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2007. 1
- 13 B. Wei, N. Sugiura, T. Maekawa. Use of artificial neural network in the prediction of algal blooms [J]. *Water Research*, 2001, **35**(8): 2022~2028
- 14 ISO 10260 Water Quality-Measurement of Biochemical Parameters; Spectrometric Determination of the Chlorophyll-a Concentration [S]. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 1992
- 15 Standardization Administration of China. GB-T 20466-2006 Determination of Microcystins in Water [S]. Beijing: China Standard Press, 2006
国家标准化管委员会. GB-T 20466-2006 水中微囊藻毒素的测定 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2006
- 16 Cheng Zibo, Zou Hua, Xiang Li *et al.*. Photocatalytic degradation of microcystin-LR with chlorophyll [J]. *Environmental Chemistry*, 2009, **28**(5): 683~686
程子波, 邹华, 向丽等. 叶绿素作用下微囊藻毒素-LR的光降解 [J]. *环境化学*, 2009, **28**(5): 683~686
- 17 Chen Wenjun, Kuai Benke. Plant chlorophyll degradation in plants [J]. *Physiology Communications*, 2001, **37**(4): 336~339
陈文峻, 蒯本科. 植物叶绿素的降解 [J]. *植物生理学通讯*, 2001, **37**(4): 336~339

栏目编辑: 韩峰