J. Lake Sci.(湖泊科学), 2008, **20**(2): 251-256
http://www.jlakes.org. E-mail: jlakes@niglas.ac.cn
©2008 by *Journal of Lake Sciences*

碱度增加对蛋白核小球藻光合活性与胞外多糖的影响*

康丽娟[1,2], 潘晓洁[1,2], 常锋毅[1,2], 李敦海[1], 沈银武[1], 刘永定[1**]
(1: 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)
(2: 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘 要: 本文研究了不同重碳酸盐(HCO_3^-)碱度2.3mmol/L(ALK2.3)和12.4mmol/L(ALK12.4)条件对蛋白核小球藻光合活性、色素组成、丙二醛(MDA)含量与胞外多糖的影响. 实验结果表明, 碱度增加对蛋白核小球藻光合活性呈促进—抑制—促进效应, ALK2.3对光合活性影响的强度高于ALK12.4. 碱度增加提高叶绿素b/叶绿素a(Chl.b/Chl.a)的值, 降低类胡萝卜素/叶绿素(Caro/TChl)的值, 并且ALK12.4条件下对藻细胞的作用程度强于ALK2.3. 此外碱度增加刺激蛋白核小球藻胞外多糖分泌, ALK2.3在培养初期提高MDA含量, ALK12.4下细胞MDA含量显著降低. 说明碱度增加会促进蛋白核小球藻光合活性, 促进光合产物的积累与分泌. 暗示胞外多糖的分泌可能是细胞适应高碱度的一种自我保护机制.
关键词: 碱度; 光合活性; 光合色素; 胞外多糖; 丙二醛

Effects of alkalinity variations on photosynthetic activity and exopotysaccharides of *Chlorella pyrenoidosa*

KANG Lijuan[1,2], PAN Xiaojie[1,2], CHANG Fengyi[1,2], LI Dunhai[1], SHEN Yinwu[1] & LIU Yongding[1]
(1: *Institute of Hydrobiology*, *Chinese Academy of Sciences, Wuhan* 430072, *P.R. China*)
(2: *Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100049, *P.R. China*)

Abstract: Effects of bicarbonate (HCO_3^-) alkalinity on the photosynthetic performance of *Chlorella pyrenoidosa* was investigated in present study. Photosynthetic activity, pigments, MDA and ultrastructure of *Chlorella pyrenoidosa* were measured for when they were cultured at two different alkalinities including 2.3mmol/L (ALK2.3) and 12.4mmol/L (ALK12.4), respectivily. At ALK2.3, photosynthetic activity was stimulated at the prophase of culture and then inhibited at the anaphase. At ALK12.4, it represented the same phenomenon, but inhibition effects were weaker than those at ALK2.3. Ratios of Chl.b/Chl.a was increased, but Caro/TChl ratios was decreased at elevated alkalinities. The contents of MDA increased at ALK2.3 and decreased at ALK12.4. In addition, secretion of glycocalix-like layer was remarkably stimulated at elevated alkalinities. These results showed that elevated alkalinities promoted algae carbon assimilation and stimulated secretion of glycocalix-like layer. Carbohydrate could alleviate stresses at elevated alkalinities. Secretion of glycocalix-like layer could decrease the synthesis of excess products of photosynthesis and relieve feedback inhibition, which will increase the stress tolerance of *C. pyenoidosa* at elevated alkalinities.
Keywords: Alkalinity; photosynthesis; pigments; exopolysaccharides; malondialdehyde

碱度是水体的综合性特征指标, 代表能被强酸滴定的物质的总和. 水中碱度的来源是多种多样的, 包括碳酸盐、硼酸盐、磷酸盐或硅酸盐等. 地表水碱度基本上是碳酸盐、重碳酸盐及氢氧化物含量的函数[1]. 全球碳酸盐岩分布面积 $2200\times10^4 km^2$, 约占陆地面积的 15%[2-3], 地表径流的增加与流域地貌对水体碱度的变化起重要作用[4]. 大多自然水体碱度为 2.0–2.5mmol/L[5], 如太湖的碱度范围为 0.69–2.63mmol/L[6].

* 中国科学院知识创新工程重大方向性项目(KZCX2-YW-426)和国家重点基础研究发展“973”计划项目(2002CB412300, 2002CB412306)联合资助. 2007–03–28 收稿; 2007–05–22 收修改稿. 康丽娟, 女, 1979 年生, 博士研究生.
** 通讯作者; E-mail: liuyd@ihb.ac.cn.

碱性系统易于捕获大气中的CO_2, 有利于藻类光合作用[7], 因而较高的生产力往往出现在碱性水体中. 碱度在一定限度内对水生生物的生存、生长起积极作用, 但超过一定限度就会对生物产生不良影响[8]. 在封闭系统中, 培养体系碱度的升高与胞内质子的流出、CO_2/HCO_3^-和NH_4^+/NH_3的利用有关[9], 在监测中碱度的升高一般作为藻类可以利用HCO_3^-的间接证据[10]. CO_2/HCO_3^-是细胞内主要的缓冲系统, HCO_3^-可作为极好的细胞自动调节的信号, 已经证明CO_2/HCO_3^-水平与代谢存在直接关系[11-14]. 以往的研究中, 对陆生植物的研究较多, 相对而言, 碱度与藻类生长的关系研究较少.

各种藻类生长都有它适合的酸碱度范围, 水体酸碱度会影响藻类的生长繁殖速度, 进而影响到种类的演替[15]. 对微囊藻的研究表明, 碱度增加会促进微囊藻快速生长、缩短生长周期、提高代谢速率和提高细胞碳水化合物含量, 但碱度过高最终会对细胞产生伤害(未发表). 为了进一步探讨碱度升高对浮游植物的影响, 本文以实验常用的一种绿藻蛋白核小球藻为材料, 探讨碱度升高对藻细胞生理生化的影响进行探讨, 目的在于探究碱度升高条件下藻类的生理生化特性变化规律, 试图从水体的碱度变化影响方面解释藻类的增殖机理.

1 材料与方法

1.1 材料培养

实验用藻种蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa* FACHB 9)来自中国科学院水生生物研究所典型培养物保藏中心淡水藻种库.

表1 不同重碳酸盐碱度下盐度与pH

Tab.1 Salinity and pH under different bicarbonate alkalinity

	对照	ALK2.3	ALK12.4
盐度(‰)	1.2	1.2	1.8
pH	7.1	7.6	8.8

碱度采用0.02mol/L HCl标定, 以甲基橙—酚酞作指示剂[1]. 由于实验室所用培养基中性偏碱, 溶液中酚酞碱度为零, 重碳酸盐碱度就是总碱度. 所以文中均以重碳酸盐碱度代替总碱度. 对照组采用BG–11培养基[16]. 处理组培养基采用改良的BG–11培养基, 即缺失Na_2CO_3, 并用$NaHCO_3$调节碱度. 将碳酸盐碱度作为单因子进行实验设计, 而将其它因子如盐度、pH均控制在正常生长范围(表1). 分别设定碱度为2.3mmol/L(ALK2.3)和12.4mmol/L(ALK12.4). 每组设3次重复, 结果取其平均值.

将扩大培养的藻种接入灭菌蒸馏水预培养24h, 之后离心弃上清, 接入不同培养基中, 培养温度25±1℃, 光强35μE/(m^2·s), 24h连续光照.

1.2 不同碱度培养的蛋白核小球藻的光合活性

光合活性用叶绿素 a 荧光表示, 叶绿素 a 荧光用浮游植物荧光仪(PHYTO-PAM, Walz GmbH, Germary)测定. 测定在室温下进行, 暗适应 15min.

1.3 色素含量的测定

叶绿素与类胡萝卜素含量的测定参照李合生主编《植物生理生化实验原理和技术》. 用 95%乙醇过夜抽提过夜, 计算公式见文献[17].

1.4 丙二醛的测定

取一定量的藻液, 离心收集藻细胞, 加入等体积的三氯乙酸与硫代巴比妥酸, 煮沸20min, 迅速冷却, 5000转/min离心5min, 测定450, 532和600nm的光密度值. 计算样品中MDA的含量. 计算公式见文献[17].

1.5 超微观察

将离心后的藻沉淀, 用pH7.0的0.1mol/L磷酸缓冲液洗3次, 然后用5%(V/V)戊二醛溶液(用含0.5mol/L蔗糖, pH7.2的0.2mol/L的二甲砷酸钠缓冲液配制)固定2h; 然后用上述磷酸缓冲液洗2次, 再用2% OsO_4固定1h, 经系列梯度酒精溶液脱水后, 用苯二甲酸二丙烯酯渗透过夜; 包埋于苯二甲酸二丙烯酯中, 聚合72h后用超薄切片机(LKB)进行超薄切片、醋酸铀檬酸铅双染色; 最后在透射电镜(H-700, HITACHI)下观察.

2 结果

2.1 碱度对蛋白核小球藻光合活性的影响

不同碱度培养的蛋白核小球藻的叶绿素荧光参数*Fv/Fm*(表示光合效率)表明, 在ALK2.3条件下, 培养初期光合效率显著增高, 从第4天开始光合效率显著低于对照组, 在第6天, 抑制程度约达12%(P<0.01, ANOVA), 之后光合活性逐步回升; 在第8天达到对照水平; 至第10天, 藻的光合活性重新开始显著高于对照. 在处理期间呈现促进–抑制–促进的模式. 在ALK12.4条件下, 与在ALK2.3条件下类似, 培养初期碱度增加对藻的光合效率影响不显著, 到第4天, 碱度增加显著抑制藻的光合效率, 之后藻光合活性恢复到对照水平, 到第10天, 藻光合活性显著高于对照(图1).

2.2 碱度对蛋白核小球藻光合色素比例的影响

光合色素比例在碱度升高下也受到了明显影响. ALK2.3 和 ALK12.4 条件下对细胞 Chl.b/Chl.a 的影响类似, 均有短期的提高, ALK12.4 的影响程度高于 ALK2.3. 在 ALK2.3 下, 碱度增加只有在第 6 天显著提高 Chl.b/Chl.a 的值. 在 ALK12.4 下, 从第 6 天到第 10 天 Chl.b/Chl.a 的值持续显著高于对照(图 2). ALK2.3 对藻细胞 Caro/TChl 的影响不显著. 在 ALK12.4 处理下, 培养前 10 天, 碱度增加显著降 Caro/TChl 的值, 其比值降低程度可达 24%(P<0.01, ANOVA). 至培养后期, Caro/TChl 恢复到对照水平(图 3).

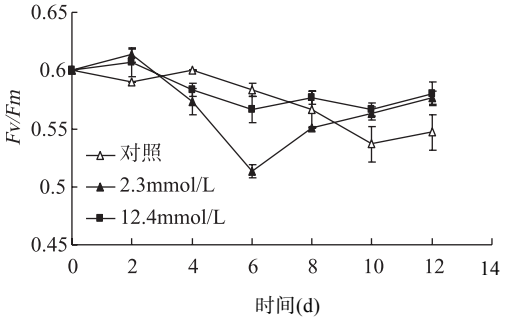


图1 不同碱度下蛋白核小球藻的*Fv/Fm*变化

Fig.1 Effect of alkalinity on *Fv/Fm* in *Chlorella pyrenoidos*

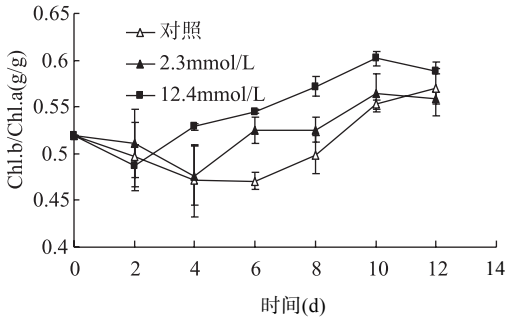


图2 碱度对蛋白核小球藻Chl.b/Chl.a的影响

Fig.2 Changes of Chl.b/Chl.a ratio in *Chlorella pyrenoidos* cultured under different alkalinity levels

2.3 碱度对蛋白核小球藻 MDA 含量的影响

在ALK2.3条件下, 培养初期, 碱度对细胞MDA含量的影响不显著, 到第6天和第8天, 碱度增加显著提高了细胞MDA的含量, 提高程度达到57%(P<0.05, ANOVA). 到培养后期, MDA含量恢复到对照水平. ALK12.4显著降低藻细胞MDA含量, 降低程度可达到68%(P<0.01, ANOVA) (图4).

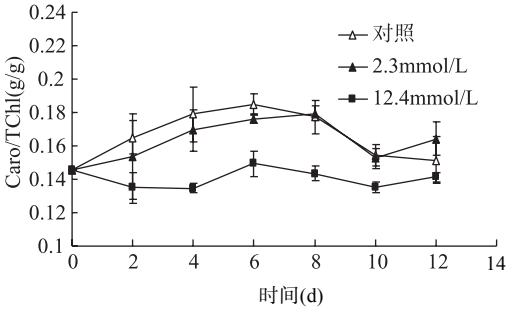


图3 碱度对蛋白核小球藻Caro/TChl的影响

Fig.3 Changes of Caro/TChl ratio in *Chlorella pyrenoidos* cultured under different alkalinity levels

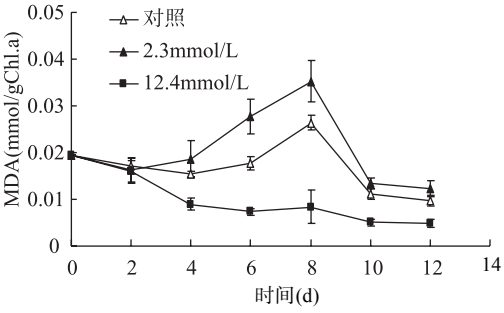


图4 不同碱度下蛋白核小球藻的MDA含量变化

Fig.4 Effect of alkalinity on MDA content in *Chlorella pyrenoidos*

2.4 碱度对蛋白核小球藻胞外多糖的影响

碱度增加蛋白核小球藻超微结构最明显的变化是细胞质固缩, 淀粉粒减少, 胞外多糖层增加. 在较低碱度ALK2.3条件下, 细胞形状显著改变, 细胞壁有凸起, 淀粉粒减少, 胞外多糖层呈多层分布. 高碱度ALK12.4条件下, 细胞质固缩, 淀粉粒减少, 胞外多糖层没有显著分层, 但厚度显著增加(图5).

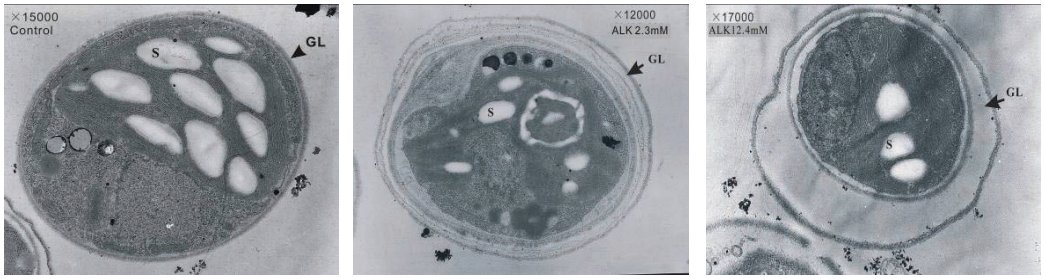


图5 不同碱度度条件下培养的蛋白核小球藻的胞外多糖变化

Fig.5 changes of ultrastructure in *Chlorella pyrenoidos*. S-starch granules, Gl-glycocalix-like layer

3 讨论

一般认为蛋白核小球藻光合固碳途径类似高等C3植物, 具有利用HCO_3^-的能力[18]. 从理论上讲, 碳源浓度的升高会促进光合作用过程中碳的固定、运转以及碳水化合物的合成, 对代谢乃至植物体的生长发育都将产生一定的促进作用[19]. 本研究发现, 较低的碱度(ALK2.3)对处理的蛋白核小球藻光合活性的影响呈现促进—抑制—促进的模式. 作者认为光合作用底物(HCO_3^-)的增加, 可能是初期光合活性提高的原因之一. Kahara 和Vermaat[20]通过对淡水大型水生植物的研究发现, 在受试的4中高等水生植物中, 有3种的光合活性与呼吸速率由于外界碱度增加而显著升高. 蛋白核小球藻光合活性提高的另一个原因可能是因为藻细胞内离子比例的变化. 吕艳芳等[21]对碳酸氢钠溶液处理后西伯利亚蓼的研究认为, 碳酸氢钠溶液处理使茎部“K^+库”转变成为“Na^+库”以维持叶部的正常生理功能, 植株在“Na^+库”达到限度之前进行旺盛的光合作用. 本实验中蛋白核小球藻可能存在类似现象. 高碱度(ALK12.4)条件下, 培养体系中Na^+浓度较高, 离子达到平衡的时间缩短, 所以在实验选取的时段内, 蛋白核小球藻的光合活性变化的模式是“影响不显著–抑制–促进”. 白莉萍等[22]对药用野生稻的研究发现, 碳源增加光合速率反而低于对照, 光合作用下调往往伴随Rubisco含量和活性的降低; 同时也可能是碳水化合物积累产生的反馈抑制作用. 在本研究中, 碱度上升后培养物在中期光合活性受到抑制, 光合产物的反馈抑制可能也是重要的原因. 培养基中无机碳浓度伴随着碱度的升高而升高, 于是蛋白核小球藻的的光合活性随着光合作用底物的增加而受到促进. 较快的光合作用速率则大大加速了细胞内光合产物的合成和积累, 反过来, 大量积累的光合产物又抑制光合活性的进一步提高. Hideaki Usuda[23]对胡萝卜的研究认为根对光合产物的转移是高浓度CO_2下光合活性没有下调作用的重要原因. 碱度增加刺激胞外多糖分泌的增加, 胞外多糖层变厚, 细胞内淀粉粒减少, 光合产物的转移缓解了其反馈抑制, 与对照相比, 光合活性恢复(图5). 待细胞达到一定浓度, 对照组培养体系中碳源受限制时, 碱度增加就表现出对光合活性的促进. 对生菜的研究认为, 碳酸氢钠处理过程中, 碱度是产生伤害的主要原因, 而不是过量Na^+的胁迫作用[24]. 在两种碱度下, 盐度升高的幅度都不大(表1). 作者对微囊藻的研究也表明盐度与pH的增加不是对其生长与光合活性影响的主要原因(未发表).

叶绿素是进行光合作用的主要色素分子, 这些色素的数量、比例对光合作用有重要影. 碱度增加提高蛋白核小球藻的叶绿素b/a比值, 说明它更有利形成叶绿素b. 叶绿素b是捕光色素蛋白复合体的重要组成部分, 它们含量的增加有利于形成更多捕光色素蛋白复合体, 增加叶绿体膜捕获光能的截面积, 增强叶绿体对光能的吸收, 从而提高光合活性. 梅镇安[25]和周佩珍[26]指出, 植物叶片中Chl.a/Chl.b值下降, 可增加对2, 6—二氯酚靛酚的还原能力, 有助于叶绿体光合磷酸化活性的提高. 在本实验中, 到培养后期叶绿素b/a值升高不显著, 根据尤珊[27]等的研究认为, 可能是因为光合速率过于旺盛, 导致氮源缺乏, 引起

光合色素减少.

类胡萝卜素在生物体内具有十分重要的生理功能, 它是植物光合作用的辅助色素, 在保护细胞免受强光、活性氧和敏化色素的有害影响中起着重要的作用[28]. 本研究发现, 低碱度(ALK2.3)对类胡萝卜素与总叶绿素的比例的影响不显著, 高碱度(ALK12.4)显著增降低类胡萝卜素与总叶绿素的比例. 类胡萝卜素的作用除光保护外, 可能还有碳库的功能[29]. 有研究发现, CO_2浓度加倍可提高类胡萝卜素的含量[30], 同时也会减少细MDA含量. 同样, 在海洋微藻中也发现CO_2加倍可显著降低MDA的含量[31]. 有研究者认为, CO_2浓度增加主要是改变了蛋白核小球藻叶绿体的超微结构[32] , 对胞外多糖没有显著的影响. 可以看出碱度增加与CO_2加倍不同, 碱度增加不是单纯的碳源浓度升高, 碱度增加刺激胞外多糖的分泌, 一方面转移了过剩的光合产物, 另一方面提高了细胞的抗逆性, 相对的减少了类胡萝卜素的含量. 这一点也可以从高碱度下细胞MDA含量减少看出, MDA是不饱和脂肪酸过氧化产物之一, 它的含量多少代表了膜脂过氧化的程度. MDA含量显著下降, 这表明了高碱度对防止藻的氧化损伤具有一定的保护作用.

研究发现, 藻细胞的大量增殖同时也引起碱度的升高[33]. 我们对滇池的监测也表明, 水华期间水体碱度有较大升高. 一般认为, 在低CO_2浓度或高pH值的水体即HCO_3^-为主要无机碳源的水体中, 蓝藻往往成为优势种, 而在相反的条件下, 绿藻和硅藻将占优势[34-36]. 蓝藻一般适应的pH范围要大于绿藻, 碱度升高在一定程度上抑制了其他藻类的竞争, 但是随着碱度的进一步升高, 诱导蛋白核小球藻产生一定的适应机制, 刺激胞外多糖的分泌. 胞外多糖分泌的增加不仅缓解了光合产物的反馈抑制, 而且对藻细胞起到一定的保护作用. 此外胞外多糖也是藻细胞群体形成与维持的重要成分. 这一结果显示碱度在水华的生消及水体优势种的演替中起着一定的作用.

4 参考文献

[1] 《水和废水监测分析方法》编委会编. 水和废水监测分析方法第三版. 北京: 中国环境科学出版社, 1997: 234-238.

[2] 袁道先. 现代岩溶学和全球变化研究. 地学前缘, 1997, **4**(1): 17-25.

[3] 曹建华, 袁道先, 潘根兴. 岩溶动力系统中生物作用机制. 地学前缘, 2001, **8**(1): 203-209.

[4] Raymond PA, Cole JJ. Increase in the export of alkalinity from North America's largest river. *Science*, 2003, **301**: 88-91.

[5] 陈佳荣. 水化学. 北京: 中国农业出版社, 1996: 46-51, 63-74.

[6] Chen YW, Qin BQ, Teubner K *et a1*. Longterm dynamics of phytoplankton assemblages: Microcystisdomination in Lake Taihu, a large shallow lake in China. *J Plankton Res*, 2003, **25**: 445-53.

[7] mhof JF, Sahl HG, Soliman GSH *et a1*. Tile wadi Natrum: chemical composition and microbial mass developments in alkaline brines of eutrophic desert lakes. *Geomicrob J*, 1997, **1**: 219-234.

[8] 杨富亿, 孙丽敏, 杨欣乔. 碳酸盐碱度对南美白对虾幼虾的毒性作用. 水产科学, 2004, **23**(9): 3-6.

[9] Espen G, Sverre M Myklested. A photobioreactor with pH control: demonstration by growth of the marine diatom Skeletonema costatum. *Journal of Plankton Research*, 2002, **24**(6): 557-563.

[10] Ora Hadas, Riki Pinkas, Estelle Delphine *et a1*. Limnological and ecophysiological aspects of Aphanizomenon ovalisporum bloom in lake Kinneret, Israel. *Journal of Plankton Research*, 1999, **21**(8): 1439-1453.

[11] Ko KC, Paradise RR. The effects of substrates on rat atria depressed with bicarbonate-free medium, citrate, or low calcium. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1970, **134**: 469-476.

[12] Ko KC, Paradise RR. Rate of depression of atrial contractility inducted by citrate, bicarbonate-free medium, hydrochloric acid, and halothane. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1971, **136**: 1222-1226.

[13] Ko KC, Paradise RR. Effect of starvation on contractile response of isolated rat atria to citrate and bicarbonate-free medium. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1971, **137**: 1115-1119.

[14] Monteil C, Marouillat S, Fillastre JP *et al.* Effects of the medium HCO_3^-/CO_2 buffer system on differentiation and intermediary metabolism properties of rabbit proximal tubule cells in primary culture. *Epithelial Cell Biol*, 1995, **4**: 131-139.

[15] 刘春光, 金相灿, 孙 凌等. pH值对淡水藻类生长和种类变化的影响. 农业环境科学学报, 2005, **24**(2): 294-29.

[16] Stanier RY, Kunisawa R, Mandel M *et al.* Purification and properties of unicellular blue-green algae (Order Chrococcales).

Bacteriol Rev, 1971, **35**: 171-205.

[17] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000: 135.

[18] Miyachi ST, Suzuki M, Avramova ST. Utilization modes of inorganic carbon for photosynthesis in various species of Chlorella. *Plant Cell Physiol*, 1983, **24**(3): 441-451.

[19] 谢 辉, 范桂枝, 荆彦辉等. 植物对大气CO_2浓度升高的光合适应机理研究进展. 中国农业科技导报, 2006, **8**(3):29-34.

[20] Kahara SN, Vermaat JE. The effect of alkalinity on photosynthesis-light curves and inorganic carbon extraction capacity of freshwater macrophytes. *Aquatic Botany*, 2003, **75**: 217-227.

[21] 吕艳芳, 王大海, 刘关君等. 盐碱胁迫下西伯利亚蓼体内无机离子的变化. 广西植物, 2006, **26**(3): 304-307.

[22] 白莉萍, 周广胜. 全球环境变化对农作物影响的研究进展. 应用与环境生物学报, 2004, **l0**(3): 394-397.

[23] Hideaki U. Effects of elevated CO_2 on the capacity for photosynthesis of a single leaf and a whole plant, and on growth in a Radish. *Plant Cell Physiol*, 2006, **47**(2): 262-269.

[24] Zhilong B, Tadashi I, Yutaka S. Effects of sodium sulfate and sodium bicarbonate on the growth, gas exchange and mineral composition of lettuce. *Scientia Horticulturae*, 2004, **99**: 215-224.

[25] 梅镇安. 离体叶绿体中不同叶绿素a/b比值与光合磷酸化活性的关系. 植物生理学报, 1965, **2**(3): 179-184.

[26] 周佩珍. 叶绿体中不同叶绿素a/b比例对还原2, 6-二氯酚靛酚能力的影响. 植物生理学报, 1964, **1**(2): 154-159.

[27] 尤 珊, 郑必胜, 郭祀远. 光照对螺旋藻形态及胞外多糖的影响和机理. 海湖盐与化工, 2003, **33**(1):23-25.

[28] Camara B, Bouvier F. Oxidative remodeling of plastid carotenoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2004, **430**: 16-21.

[29] Sosik HM, Mitchel BG. Effects of temperature on growth, light absorption, and quantum yield in Dunaliela tertiolecta(Chlorophyceae). *Phycologia*, 1994, **30**: 833-840.

[30] 张其德. 大气二氧化碳浓度升高对光合作用的影响(下). 植物杂志, 1999, **5**: 32-37.

[31] 于 娟, 唐学玺, 张培玉等. CO_2加富对两种海洋微绿藻的生长、光合作用和抗氧化酶活性的影响. 生态学报, 2005, **25**(2): 197-202.

[32] 夏建荣, 高坤山. 不同CO_2浓度下培养的蛋白核小球藻细胞结构的变化. 武汉植物学研究, 2002, **20**(5): 403-404.

[33] Ora Hadas, Riki Pinkas, Estelle Delphine *et a1*. Limnological and ecophysiological aspects of Aphanizomenon ovalisporum bloom in lake Kinneret, Israel. *J Plankton Res*, 1999, **21**(8): 1439-1453.

[34] Qiu Bao Sheng, Gao Kun Shan. Effects of CO_2 enrichment on the bloom- forming cyanobacterium microcytis aeruginosa (cyanophyceae): physiological responses and relationshios with availity of dissolved inorganic carbon. *Journal of Phycology*, 2002, **38**: 721-725.

[35] Oliver RL, Ganf GG. Freshwater blooms. Potts M. The ecology of cyanobacteria. Netherlands: Kluwer Acdemic Publishers, 2000: 149-194.

[36] Kaplan A, Reinhold L. CO_2 concentrating mechanisms in photosynthetic microorganisms. *Plant Mol Biol*, 1999, **50**: 539-570.