

叶绿素荧光的藻类对重金属胁迫敏感性研究

段静波 刘文清 张玉钧 赵南京 王志刚 殷高方 刘晶 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 采用脉冲振幅调制(PAM)技术,对同一浓度金属离子 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 对斜生栅藻、蛋白核小球藻、普通小球藻的抑制作用进行了测定研究。通过对 3 种藻叶绿素 a PS II 系统各荧光参数的测定,以抑制率和重金属响应时间为分析参考依据,确定蛋白核小球藻为 4 种重金属的敏感藻种。3 种不同藻对 4 种重金属的敏感度为:蛋白核小球藻>斜生栅藻>普通小球藻,4 种重金属对蛋白核小球藻的急性毒性大小为: Hg^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+} 。与传统的藻类生长抑制实验相比,该敏感藻种筛选方法具有简便、快速的优点。

关键词 测量;蛋白核小球藻;藻种筛选;脉冲振幅调制

中图分类号 O433.4 文献标识码 A doi: 10.3788/AOS201333.s130001

Study on Sensitivity of Microalgal Stressed by Heavy Metals Based on Chlorophyll Fluorescence

Duan Jingbo Liu Wenqing Zhang Yujun Zhao Nanjing Wang Zhigang
Yin Gaofang Liu Jing 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 The inhibitions of *scenedesmus obliquus*, *chlorella pyrenoidosa* and *chlorella vulgaris* stressed by the same concentration of Hg^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} are investigated with pulse amplitude modulation (PAM) technology. The chlorophyll-a fluorescence parameters of PS II system are measured and the inhibition rates and response times of three kinds of algae offer reference for the sensitive microalgal species. From the results, *chlorella pyrenoidosa* is determined as a sensitive microalgal species to Hg^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} . The sensitivity of three microalgals can be expressed as *chlorella pyrenoidosa* > *scenedesmus obliquus* > *chlorella vulgaris*. The toxicity results of four kinds of heavy metal ions can be expressed as Hg^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+} . Compared to algal growth inhibition experiment, this new method for a sensitive microalgal specie selection is simple and rapid.

Key words measurement; *chlorella pyrenoidosa*; microalgal species selection; pulse amplitude modulation

OCIS codes 300.2530; 300.6170; 300.6190

1 引 言

利用生物毒性检测技术进行水质安全预警和应急检测是目前国内外环境科学领域的研究热点。因藻类具有易培养、繁殖快、对环境毒物敏感并可直接观察细胞水平上的中毒症状等优点,是一种较理想的生物毒性实验材料^[1,2]。藻类受重金属胁迫,其

生长代谢、光合作用、酶活性、细胞色素含量和细胞结构会发生改变^[2]。依据藻类对重金属的反应即可对被试毒物的毒性强弱及其环境效应做出较为客观的综合性评价。在众多的藻类毒物检测方法中^[3~8],利用藻类生长抑制实验^[3]对毒物毒性进行检测的方法,于 1981 年被国际经合组织(OECD)确

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 (通讯联系人)

定为国际标准方法^[9]。该实验方法可用于受试物对藻类短期暴露效应的初评,但实验周期较长,需要重复,操作繁琐,无法满足水质安全预警和应急检测的需求。为了快速监测环境中各污染物对水环境的胁迫和危害,有学者在藻类荧光方面开展了一定的前期研究工作并尝试建立以光合作用活性作为藻类毒性测试指标的方法^[6,10~16]。藻类在受到环境污染物胁迫时,其光合作用电子传递过程受到抑制,光合活性明显下降,导致藻荧光产量的增加,光合作用活性下降的多少和环境毒物的毒性直接相关。梁英等^[10]研究了不同浓度的 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 对三角褐指藻叶绿素荧光特性的影响,以 F_v/F_m 、 F_v/F_0 、 r_{ETR} 、 f_{PQ} 、 f_{NPQ} 等为主要荧光参数,通过计算得出 3 种重金属毒性大小顺序为 $\text{Cd}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$; P. Juneau 等^[13]利用脉冲振幅调制(PAM)技术对 3 种藻(普通小球藻、羊角月牙藻、莱茵衣藻)对铜的敏感性进行了评价。不同藻类对不同环境毒物的敏感程度不同,选择出一种藻对所检测的多种环境毒物均有较好的敏感度是本实验的研究目的,也是利用藻类对水质进行安全预警和应急检测的基础。

本文选取国家卫生部颁发的“生活饮用水安全标准”^[17]中所规定的重金属(Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cu^{2+})为检测对象,以常用淡水藻为实验材料,利用 PAM 技术^[13,16],通过变化光源的激发光强对叶绿素 a PS II 系统各荧光参数进行测定,筛选敏感藻种并对重金属对敏感藻种的毒性强弱进行评价。该方法具有快速、简便、灵活、无需对样品进行前处理的优点。

2 材料与方法

2.1 材料

选取 3 种常用淡水藻:斜生栅藻(*scenedesmus obliquus*, FACHB-417)、蛋白核小球藻(*chlorella pyrenoidosa*, FACHB-1222)、普通小球藻(*chlorella vulgaris*, FACHB-1227)为实验材料。均购自中国科学院水生生物研究所淡水藻种库。选取 4 种“生活饮用水安全标准”所规定的重金属: Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 为检测对象^[17]。

2.2 藻种培养方法

在 1000 mL 的透明玻璃瓶中进行预培养,采用 BG-11 培养基,培养温度:(20 ± 5) $^{\circ}\text{C}$,连续光照,光照度:200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光暗比:14 h/10 h,pH:7,并进行预实验,以确定合适的重金属浓度范围。

实验在 250 mL 的锥形瓶中进行,根据预实验的结果,将 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 质量浓度均设定

为 100 mg/L。以不加重金属的空白组为对照,将以上 4 种重金属溶液分别加入处于对数生长期的斜生栅藻、蛋白核小球藻、普通小球藻液中,使每毫升的藻液个数约为 1×10^5 ,为每种重金属设定 3 个平行样。

2.3 叶绿素荧光参数测定方法

用水样叶绿素荧光仪 Water-PAM(德国 Walz 公司)对受重金属胁迫藻液的叶绿素 a PS II 系统各荧光参数进行测定。每 4 min 测定一次,每个样品连续测定 6 次(约 30 min)。测定的叶绿素荧光参数有:潜在最大量子效率(F_v/F_m)、实际量子效率 η 、电子传递速率 v_{ETR} 、光化学淬灭参数 f_{PQ} 和非光化学淬灭参数 f_{NPQ} 。

2.4 相关参数计算方法

1) 藻活性 G 的计算^[18]:

$$G = 100 \times \frac{F_m - F_0}{F_m}, \quad (1)$$

式中 G 以百分数的形式表示藻活性,其数值取决于藻的种类和生理状态,最高可达到 75%,至少应高于 60%; F_0 为没有背景光时的荧光反应; F_m 为有强背景光时的荧光反应。

2) 藻活性抑制率 R 的计算:

$$R = 100 \times \left(1 - \frac{G_{\text{sample}}}{G_{\text{reference}}}\right), \quad (2)$$

式中 G_{sample} 为藻液样品活性值; $G_{\text{reference}}$ 为空白参比活性值。

2.5 统计分析

用 Origin7.5 软件对实验结果进行统计分析。

3 结果与讨论

3.1 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 对 3 种供试藻光合活性的抑制

图 1 表明,不同重金属离子对不同种藻光合活性的抑制不同。 Hg^{2+} 对 3 种藻光合活性的抑制如图 1(a)所示:30 min 内, Hg^{2+} 对 3 种藻均有较强的毒性作用,3 种藻对质量浓度为 100 mg/L 的 Hg^{2+} 胁迫均有显著响应。这可能是由于 Hg^{2+} 对其光合作用及似亲孢子形成的抑制^[19]。随胁迫时间的延长,微藻光合作用的电子传递系统受到迫害,导致光合色素损害和叶绿素含量下降,光合系统 PS II 的荧光参数下降,光合活性抑制率显著增加,不同种藻光合活性抑制率增加幅度存在一定的差异。斜生栅藻、蛋白核小球藻、普通小球藻光合活性抑制率最大值分别为 98.54%、100%、75.2%,说明 3 种藻对

Hg^{2+} 的敏感度不同,敏感度大小为:蛋白核小球藻 > 斜生栅藻 > 普通小球藻。

图 1(b)为 Cd^{2+} 对 3 种藻光合活性的抑制,由图可知:30 min 内, Cd^{2+} 对 3 种藻的毒害作用较弱,3 种藻对质量浓度为 100 mg/L 的 Cd^{2+} 胁迫的响应不明显,这可能是 Cd^{2+} 刺激了微藻的三羧酸循环产生了能量^[18],或是受 Cd^{2+} 诱导产生了金属结合硫蛋白(MT)和植物整合肽(PG)^[20,21],最终使 Cd^{2+} 的

毒性降低。随胁迫时间的增加,3 种藻的光合活性抑制率略有增加,这说明 PS II 反应中心已受到损害,抑制了光合作用的原初反应,光合电子传递受到了阻碍。不同种藻光合活性抑制率增加幅度不同,斜生栅藻、蛋白核小球藻、普通小球藻光合活性抑制率最大值分别为 7.87%、11.4%、20.7%,3 种藻对 Cd^{2+} 的敏感度大小为:普通小球藻 > 蛋白核小球藻 > 斜生栅藻。

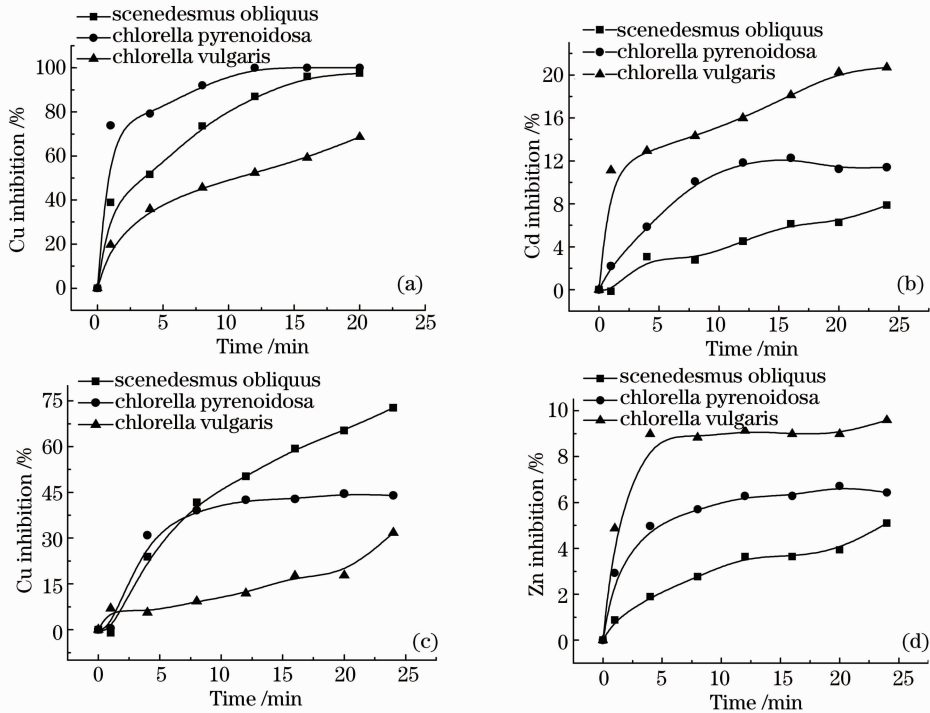


图 1 (a) Hg^{2+} 、(b) Cd^{2+} 、(c) Cu^{2+} 、(d) Zn^{2+} 对斜生栅藻、蛋白核小球藻、普通小球藻光合活性的抑制

Fig. 1 Inhibitions of (a) Hg^{2+} , (b) Cd^{2+} , (c) Cu^{2+} , (d) Zn^{2+} on photosynthetic activities of *scenedesmus obliquus*, *chlorella pyrenoidosa* and *chlorella vulgaris*

图 1(c)为 Cu^{2+} 对 3 种藻光合活性的抑制,从图可见:30 min 内, Cu^{2+} 对斜生栅藻和蛋白核小球藻的毒性作用较强,对普通小球藻的毒性作用较弱。 Cu^{2+} 对微藻的毒害作用可能是通过破坏细胞原生质层膜的渗透性,造成细胞中的钾和镁不可逆的流失,使得藻细胞代谢中断,正常的化合物代谢受到影响来实现的^[22]。 Cu^{2+} 还会使得叶绿素 a 光合系统的蛋白复合体含量下降,影响藻细胞的光合速率,抑制供试藻的光合色素合成,从而使测得的 PS II 反应中心的荧光参数值下降,藻细胞的光合抑制率上升。实验期间, Cu^{2+} 对斜生栅藻、蛋白核小球藻、普通小球藻光合活性抑制率最大值分别为 72.74%、44%、38.81%;3 种供试藻对 Cu^{2+} 毒性的敏感程度大小是:斜生栅藻 > 蛋白核小球藻 > 普通小球藻。

图 1(d)为 Zn^{2+} 对 3 种藻光合活性的抑制,从图

可见:30 min 内,3 种供试藻对质量浓度为 100 mg/L 的 Zn^{2+} 胁迫的响应不明显。 Zn^{2+} 是生物代谢所必须的微量营养元素,在适当浓度下可促进酶的活性,但当其浓度达到一定范围时,就会影响藻细胞叶绿体中还原型辅酶的形成及三磷酸腺苷的合成^[23,24],抑制藻类的生长,降低叶绿素含量,从而导致类胡萝卜素的比比例失调,光合系统电子传递受阻,光合反应抑制率上升。高浓度锌还能通过增加藻细胞的渗透性和细胞蛋白核的完整性对细胞体产生毒害作用^[25]。实验期间, Zn^{2+} 对斜生栅藻、蛋白核小球藻、普通小球藻光合活性抑制率最大值分别为 5.1%、6.43%、9.59%,3 种供试藻对 Zn^{2+} 毒性的敏感程度大小是:普通小球藻 > 蛋白核小球藻 > 斜生栅藻。

3.2 对 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 敏感藻种的确定

斜生栅藻、蛋白核小球藻、普通小球藻对

Hg²⁺、Cd²⁺、Cu²⁺、Zn²⁺ 敏感程度各不相同。以重金属离子对 3 种藻的抑制率为首要条件,结合 3 种供试藻对 4 种重金属达到某一抑制率时的响应时间,对敏感藻种进行筛选^[19]。重金属离子对供试藻的抑制率为测试时间内的最大抑制率。根据抑制率-响应时间拟合曲线,分别选取 Hg²⁺、Cd²⁺、Cu²⁺、Zn²⁺ 对 3 种藻抑制率达到 70%、10%、10%和 5%的

表 1 3 种藻受 Hg²⁺、Cd²⁺、Cu²⁺、Zn²⁺ 胁迫的最大抑制率及对应某一抑制率的响应时间

Table 1 Maximum inhibition ratios of Hg²⁺, Cd²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ stress on three microalgal and response time of certain inhibition ratios

| | Scenedesmus obliquus | | Chlorella pyrenoidosa | | Chlorella vulgaris | |
|------------------|----------------------|------------------------------|-----------------------|------------------------------|---------------------|------------------------------|
| | R _{max} /% | T _{Inhibition} /min | R _{max} /% | T _{Inhibition} /min | R _{max} /% | T _{Inhibition} /min |
| Hg ²⁺ | 98.54 | 5.95 | 100 | 1.17 | 75.2 | 20.91 |
| Cd ²⁺ | 7.87 | 36.51 | 11.4 | 12.25 | 20.7 | 2.57 |
| Cu ²⁺ | 72.74 | 1.68 | 44 | 0.82 | 38.81 | 8.67 |
| Zn ²⁺ | 5.1 | 24.33 | 6.43 | 4.38 | 9.59 | 0.28 |
| Average | 45.98 | 17.12 | 40.46 | 4.66 | 36.08 | 8.11 |

斜生栅藻对 4 种重金属离子的响应抑制率为 45.98%,是各供试藻种中最高的,在 4 种重金属中 Hg²⁺、Cu²⁺ 的抑制率比总均值明显,说明斜生栅藻对 Hg²⁺、Cu²⁺ 特别敏感。斜生栅藻对 4 种重金属毒性响应顺序为: Hg²⁺ > Cu²⁺ > Cd²⁺ > Zn²⁺。斜生栅藻较其他两种供试藻种对 4 种重金属的响应平均时间最长,即 17.12 min,响应最慢,其中, Cd²⁺ 最大抑制率为 7.87%,抑制率为 10%的响应时间已超出实验范围,由拟合曲线估算得到。斜生栅藻对 Cd²⁺ 和 Zn²⁺ 的响应最慢。

蛋白核小球藻对 4 种重金属离子的响应抑制率为 40.46%,高于总均值 40.07%。4 种重金属中对 Hg²⁺、Cu²⁺ 的胁迫作用敏感,其中对 Hg²⁺ 的胁迫尤为敏感。实验时间内, Hg²⁺ 对蛋白核小球藻的抑制率已达 100%。蛋白核小球藻对 4 种重金属毒性响应顺序为: Hg²⁺ > Cu²⁺ > Cd²⁺ > Zn²⁺, 与斜生栅藻相似。就响应时间分析,蛋白核小球藻对 4 种重金属的响应平均时间最短,即 4.66 min,响应最快。其中对 Hg²⁺、Cu²⁺、Zn²⁺ 的响应时间均低于响应时间总均值,响应较好。从时间响应上看,蛋白核小球藻较斜生栅藻而言,对 4 种重金属更为敏感。

普通小球藻对 4 种重金属离子的响应抑制率为 36.075%,低于总均值。在 4 种重金属中 Cu²⁺、Cd²⁺、Zn²⁺ 的抑制率均低于总均值,响应较弱。就响应时间而言,普通小球藻对 4 种重金属的响应平均时间为 8.11 min,低于响应时间总均值,但较蛋白核小球藻的响应时间长。因此判断,普通小球藻相对于其他两种供试藻种而言,对 4 种重金属离子

时间作为响应时间,用 T_{Inhibition} 表示。

用最大抑制率及某抑制率对应的响应时间来分析藻对毒物的响应,用平均抑制率分析毒性大小,用平均响应时间分析毒性快慢。各供试藻对重金属胁迫的抑制率及对应某一抑制率的响应时间如表 1 所示。供试藻对重金属响应抑制率的总均值为 40.07%,响应的的时间总均值为 11.55 min。

的敏感度最弱。

根据以上分析可知:3 种供试藻对 4 种重金属的敏感度为:蛋白核小球藻 > 斜生栅藻 > 普通小球藻,4 种重金属对蛋白核小球藻的急性毒性大小为: Hg²⁺ > Cu²⁺ > Cd²⁺ > Zn²⁺。

4 结 论

1) 不同供试藻对不同重金属敏感度不同:3 种供试藻对 Hg²⁺ 的敏感度大小为:蛋白核小球藻 > 斜生栅藻 > 普通小球藻;对 Cd²⁺ 的敏感度大小为:普通小球藻 > 蛋白核小球藻 > 斜生栅藻;对 Cu²⁺ 毒性的敏感度大小是:斜生栅藻 > 蛋白核小球藻 > 普通小球藻;对 Zn²⁺ 毒性的敏感度大小是:普通小球藻 > 蛋白核小球藻 > 斜生栅藻。

2) 以重金属离子对 3 种藻的抑制率为首要条件,结合 3 种供试藻对 4 种重金属达到某一抑制率时的响应时间,对敏感藻种进行筛选,可得,3 种供试藻对 4 种重金属的敏感度为:蛋白核小球藻 > 斜生栅藻 > 普通小球藻,4 种重金属对蛋白核小球藻的急性毒性大小为: Hg²⁺ > Cu²⁺ > Cd²⁺ > Zn²⁺。

3) 采用 PAM 技术,测定 3 种供试藻种(斜生栅藻、蛋白核小球藻、普通小球藻)叶绿素 a PSII 系统各荧光参数,计算 4 种重金属离子(Hg²⁺、Cd²⁺、Cu²⁺、Zn²⁺)的抑制率和响应时间,以确定 4 种重金属的敏感藻种这一方法是切实可行的,且与传统的藻类生长抑制实验方法相比,具有快速、简便的优点。

参 考 文 献

- 1 Xie Yan, Li Zongyun, Feng Lin *et al.*. Detection method and its application for toxicant using algae[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, **31**(12): 77~83
- 谢 艳, 李宗芸, 冯 琳 等. 藻类毒物检测方法及其应用研究进展[J]. *环境科学与技术*, 2008, **31**(12): 77~83
- 2 Wang Xiaohui, Jin Jing, Ren Hongqiang *et al.*. Development of biotoxicity testing method on detecting water quality[J]. *Hebei J. Industrial Science and Technology*, 2007, **24**(1): 59~60
- 王晓辉, 金 静, 任洪强 等. 水质生物毒性检测方法研究进展[J]. *河北工业科技*, 2007, **24**(1): 59~60
- 3 Editorial Committee of State Environmental Protection Administration. Method for Testing Water and Wastewater Method for Testing Water and Wastewater [M]. Beijing: Publishing House of China Environmental Science, 2002. 715~721
- 国家环境保护总局水和废水监测分析方法编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002. 715~721
- 4 Wang Dawei, Gao Yahui, Cheng Zhaodi *et al.*. Effect of germanium toxicity on the morphology and ultrastructure of four species of microalgae [J]. *China Environmental Science*, 1998, **18**(6): 501~505
- 王大志, 高亚辉, 程兆第 等. 锗毒性对四种微藻形态和超微结构的影响[J]. *中国环境科学*, 1998, **18**(6): 501~505
- 5 Shi Ying, Du Qingping, Xie Shulian. Toxic effects of 1, 4-dichlorobenzene on chlorella pyrenoidosa [J]. *Research of Environmental Science*, 2007, **20**(3): 133~136
- 石 瑛, 杜青平, 谢树莲. 1,4-二氯苯对蛋白核小球藻的毒性效应[J]. *环境科学研究*, 2007, **20**(3): 133~136
- 6 Chen Dehui, Wang Gang, Zhang Zongshe *et al.*. Photosynthesis rate as an index of the algal to xicity test [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1999, **23**(5): 449~454
- 陈德辉, 王 罡, 章宗涉 等. 光合率作为藻类毒理测试指标[J]. *水生生物学报*, 1999, **23**(5): 449~454
- 7 Liu Tao, Xiong Li, Sheng Xiumei *et al.*. Study on the toxicity of beta-cypermethrin to scenedesmus obliquus[J]. *J. Postgraduates of Huazhong Normal University*, 2006, **13**(2): 149~153
- 刘 涛, 熊 丽, 生秀梅 等. 高效氯氰菊酯对斜生栅藻的毒性研究[J]. *华中师范大学研究生学报*, 2006, **13**(2): 149~153
- 8 S. Xu, N. Nirmalakhandan. Use of QSAR models in predicting joint effect in multi-component mixtures of organicchemicals[J]. *Water Res.*, 1998, **32**(8): 2391~2399
- 9 OECD. Test Guideline 201[S]. Paris: Decision of the Council C (31) 30 Fina, 1981: 320~323
- 10 Liang Ying, Wang Shuai, Feng Lixia *et al.*. Effects of heavy metals stress on growth and chlorophyll fluorescence of phaeodactylum tricornutum[J]. 2009, **28**(4): 374~382
- 梁 英, 王 帅, 冯力霞 等. 重金属胁迫对三角褐指藻生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. *海洋环境科学*, 2009, **28**(4): 374~382
- 11 Duan Yali, Su Rongguo, Shi Xiaoyong *et al.*. Differentiation of phytoplankton populations by in vivo fluorescence based on high-frequency component of wavelet [J]. *Chinese J. Lasers*, 2012, **39**(7): 0715003
- 段亚丽, 苏荣国, 石晓勇 等. 基于小波高频分量的浮游植物活体荧光识别技术研究[J]. *中国激光*, 2012, **39**(7): 0715003
- 12 Zhang Cui, Su Rongguo, Zhang Shanshan *et al.*. Fluorescence discrimination and determination method for phytoplankton composition by SA4 multiwavelet [J]. *Chinese J. Lasers*, 2011, **38**(7): 0715003
- 张 翠, 苏荣国, 张珊珊 等. SA4 多小波在浮游藻荧光识别测定技术中的应用[J]. *中国激光*, 2011, **38**(7): 0715003
- 13 P. Juneau, A. El Berdey, R. Popovic. PAM fluorometry in the determination of the sensitivity of chlorella vulgaris, selenastrum capricornutum, and chlamydomonas reinhardtii to copper[J]. *Archives Environmental Contamination and Toxicology*, 2002, **42**(2): 155~164
- 14 Catriona M. O. Macinnis-Ng, Peter J. Ralph. Towards a more ecologically relevant assessment of the impact of heavy metals on the photosynthesis of the seagrass, Zostera capricorni[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2002, **45**(1-12): 100~106
- 15 Hanne D. Nielsen, Colin Brownlee. Inter-population differences in inherited copper tolerance involve photosynthetic adaptation and exclusion mechanisms in Fucus serratus [J]. *New Phytologist*, 2003, **160**(1): 157~165
- 16 Ulrich Schreiber. Pulse-Amplitude-Modulation (PAM) Fluorometry and Saturation Pulse Method: An Overview[M]. Berlin: Springer, 2004
- 17 Standardization Administration of China. GB-T 5749-2006 Standards for Drinking Water Quality[S]. Beijing: China Standard Press, 2006
- 国家标准化管理委员会. GB-T 5749-2006 生活饮用水卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006
- 18 Li Ming, Pan Xiaojie, Chen Xiaojuan *et al.*. The structure, function and debugging effects of bbe Algal Toximeter[J]. *Environment and Ecology in the Three Gorges*, 2011, **33**(6): 46~50
- 李 明, 潘晓洁, 陈小娟 等. 一种新型水体在线毒性监测系统—bbe Algal Toximeter 的构造功能及调试效果[J]. *三峡环境与生态*, 2011, **33**(6): 46~50
- 19 Tian Cheng. Study on the Discipline of Algal Fluorescence Response to Heavy Metal Toxicity [D]. Hebei University of Science and Technology, 2010. 38
- 田 程. 藻类荧光对重金属毒性响应规律的研究[D]. 河北科技大学, 2010. 38
- 20 Jin Wei. Effect of salt and Cr³⁺ on physiology and biochemistry of single-cell algae [J]. *J. Hebei University (Natural Science Edition)*, 2002, **22**(1): 44~50
- 金 伟. 盐和铬对单细胞藻生理生化的影响[J]. *河北大学学报(自然科学版)*, 2002, **22**(1): 44~50
- 21 J. S. Turner, A. P. Morby, B. A. Whitton *et al.*. Construction of Zn²⁺/Cd²⁺ hypersensitive cyanobacterial mutants lacking a functional metallothionein Iocus [J]. *Biological Chemistry*, 1993, **268**(6): 4494~4498
- 22 Guan Yueqiang, Zhang Yike, Chen Yong. Toxic effects of copper ion on spirulina platensis[J]. *J. Hebei University (Natural Science Edition)*, 2002, **20**(2): 182~184
- 管越强, 张义科, 陈 勇. Cu²⁺ 对钝顶螺旋藻的毒性影响[J]. *河北大学学报(自然科学版)*, 2002, **20**(2): 182~184
- 23 Zhou Yinhan, Liu Dongchao. Effect of four kinds of trace metal element on growth, chlorophyll-a and size of pavlova viridis[J]. *J. Zhanjiang Ocean University*, 2003, **23**(1): 22~28
- 周银环, 刘东超. 4 种微量金属元素对绿色巴夫藻生长、叶绿素 a 及大小的影响[J]. *湛江海洋大学学报*, 2003, **23**(1): 22~28
- 24 Zhang Tieming, Du Guisen, Yang Zhongshan *et al.*. Effects of zinc on two phytoplanktons in fresh water[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.*, 2006, **26**(8): 1722~1726
- 张铁明, 杜桂森, 杨忠山 等. 锌对 2 种淡水浮游藻类增殖的影响[J]. *西北植物学报*, 2006, **26**(8): 1722~1726
- 25 R. Peterson. Influence of copper and zinc on the growth of a freshwater algae, Scenedesmus quadricauda; the significance of chemical speciation[J]. *Environ. Sci. Technol.*, 1982, **16**(8): 443~447

栏目编辑: 韩 峰