第 38 卷第 3 期　　河北科技大学学报　　Vol. 38, No. 3
2017 年 6 月　　Journal of Hebei University of Science and Technology　　June 2017

文章编号:1008-1542(2017)03-0305-08　　doi:10.7535/hbkd.2017yx03014

利用藻类荧光检测雾霾的生物毒性研究

崔建升[1,2],赵德华[1,2],段莉丽[1,2],王立新[1,2],武　彤[1,2]

(1.河北科技大学环境科学与工程学院,河北石家庄　050018;2.河北省污染防治生物技术实验室,河北石家庄　050018)

摘　要: 雾霾中污染物成分复杂,单一评价某类污染物无法评估其综合毒性。为了快速、准确和全面地评价雾霾的综合毒性,选用微藻叶绿素荧光法进行生物毒性评价。以蛋白核小球藻和铜绿微囊藻为实验藻,以供暖期的雾霾为研究对象,分别使用溶液吸收法和滤膜称重法采集雾霾吸收液和总悬浮颗粒物(TSP)。利用水样荧光检测仪检测微藻在受到雾霾吸收液和总悬浮颗粒物浸出液胁迫时的各荧光参数(Y(Ⅱ),NPQ,qP,ETR,F_v/F_m)的变化情况,并进行对比分析。结果表明,蛋白核小球藻在受到外源性雾霾暴露时表现较敏感,荧光参数下降明显,尤其是参数 NPQ 在重度污染两天的雾霾吸收液的影响下分别下降 46.3%和 40.2%,而铜绿微囊藻只有在总悬浮颗粒物浸出液干扰下才有明显的表征。因此,选择蛋白核小球藻的 NPQ 参数作为雾霾生物毒性的指标是可行的。

关键词: 环境毒理学;生物毒性;藻类荧光;雾霾;蛋白核小球藻;铜绿微囊藻

中图分类号: X835　　**文献标志码:** A

Detection of biological toxicity of haze with algae fluorescence

CUI Jiansheng[1,2], ZHAO Dehua[1,2], DUAN Lili[1,2], WANG Lixin[1,2], WU Tong[1,2]

(1. School of Environmental Science and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang, Hebei 050018, China; 2. Pollution Prevention Biotechnology Laboratory of Hebei Province, Shijiazhuang, Hebei 050018, China)

Abstract: The comprehensive toxicity of haze cannot be evaluated by evaluating each pollutant separately because haze contains complex components. In order to quickly, accurately and comprehensively evaluate the comprehensive toxicity of haze, Algae chlorophyll fluorescence method is used to assess the biological toxicity. With *Chlorella pyrenoidosa* and *Microcystis aeruginosa* used as experiment algae, and the haze in the heating period as the research object, the solution absorption method and membrane weighing method are used to collect the liquid absorption haze and total suspended particles haze (TSP), respectively. The change of fluorescence parameters (Y(Ⅱ), NPQ, qP, ETR, F_v/F_m) of single algae under the stress of the haze absorption liquid and the total suspended particulate matter are detected by water fluorescence detector. The results show that *Chlorella pyrenoidosa* is more sensitive to exogenous haze exposure, and the fluorescence parameters decreases significantly, especially that the concentration of NPQ decreases by 46.3% and 40.2% under the influence of haze absorption in the two days

收稿日期:2016-11-02;修回日期:2017-01-02;责任编辑:王海云

基金项目:国家 863 计划项目(2007AA092201)

第一作者简介:崔建升(1966—),男,河北沧州人,教授,博士,主要从事环境监测技术方面的研究。

E-mail:cui1603@163.com

崔建升,赵德华,段莉丽,等.利用藻类荧光检测雾霾的生物毒性研究[J].河北科技大学学报,2017,38(3):305-312.

CUI Jiansheng, ZHAO Dehua, DUAN Lili, et al. Detection of biological toxicity of haze with algae fluorescence[J]. Journal of Hebei University of Science and Technology, 2017, 38(3): 305-312.

of heavy pollution, while *Microcystis aeruginosa* displays obvious characterization only in the interference of total suspended particulate matter leaching solution. Therefore, it is possible that the NPQ parameter of *Chlorella pyrenoidosa* is selected as an indicator for haze biological toxicity.

Keywords: environmental toxicology; biological toxicity; algae fluorescence; haze; *Chlorella pyrenoidosa*; *Microcystis aeruginosa*

自 2013 年成为年度关键词后，雾霾日益受到社会的广泛关注，这是由于它影响范围广，对人体的危害性大。雾霾的危害性主要来自于形成雾霾的细颗粒物（一般指 $PM_{2.5}$），因 $PM_{2.5}$ 粒径小、表面积大、活性强、易附带有毒和有害物质（例如重金属、微生物等），且在大气中的停留时间长、输送距离远，而对人体健康和大气环境质量产生严重的不利影响。由于细颗粒物所附带的污染物种类较多，采用传统的物理化学分析方法仅可分析单一污染物的浓度，并不能反映共存污染物间的复合生物效应，也就难以直接评价雾霾的毒性特征以及对生态系统的影响。而生物毒性检测可以直观反映雾霾中污染物的整体生物学效应，以此弥补传统方法的不足[1]。

生物毒性作为污染物的基础指标之一，是国际普遍采用的综合性监测指标。它可以正确反映出环境中的污染负荷与生物学效应的关系，直观地反映污染物对生物种群的综合毒性[2]。早期有学者发现，发光细菌体内的荧光素酶受到毒性物质的抑制会使发光强度减弱，并且其减弱程度与毒性物质的浓度成一定的线性关系，于是根据这一现象提出了利用发光细菌指示污染物毒性的生物毒性检测方法[3]。该方法在使用初期存在再现性较差、细胞发光强度本底差异大[4]、检测期间发光自然变化幅度较宽、培养条件局限于室内等问题，随着引入校正因子并对实验条件下影响因素研究的不断深入，使得标准偏差降低，重现性增强[5]，但其仍存在一定的局限性，例如不能进行连续监测等。

在水生毒理学研究中，藻类是水体生态系统中最重要的初级生产者，因其个体微小、繁殖速度快、对环境毒物敏感性高，被公认为理想的生物指示物[6]；又因其在较短时间内可反映出化学物质对其世代及种群水平的影响，并可直接观察细胞水平上的中毒症状，而得到广泛应用。利用藻类监测环境污染的优越性主要体现在：1)能够综合反映环境污染对生态系统的影响；2)可直接观察污染物对生命系统的危害状态；3)可早期发现环境污染；4)能监测污染物的长期影响。因此，笔者选用藻类作为雾霾生物毒性的指示生物。

叶绿素荧光作为光合作用的天然探针得到了广泛的研究和应用。叶绿素荧光现象是由传教士 BREWATER 于 1834 年首次发现[7]。经过不断地发展，叶绿素荧光技术在微藻环境胁迫研究中的应用十分广泛，例如对有机污染物、外源性无机盐、重金属离子等环境因子的监测，都可以利用叶绿素荧光作为指标来评价微藻光合作用所受到的影响，从而得出污染物对微藻生物毒性的响应程度[8-9]。EULLAFFROY 等[10]在 2003 年研究了几种除草剂对斜生栅藻毒性作用的影响，研究结果表明，斜生栅藻在 684 nm 和 735 nm 处的叶绿素荧光比值（$F684/F735$）可作为评价水中抑制光合作用的除草剂毒性的指标，随着除草剂浓度的增大，$F684/F735$ 值也不断增大，且呈正相关关系。王丽等[11]在 2006 年利用叶绿素荧光仪测量三角褐指藻的荧光强度，并检测除草剂莠去津的浓度，发现荧光强度随莠去津浓度的增大而增大，并且莠去津的检出限为 0.5 μg/L。冉春秋等[12]在 2008 年分别采用无硫培养基和添加解偶联剂 CCCP 培养基来研究海水绿藻（*Platymonas subcordiformis*）光合作用的特征，结果表明在无硫连续光照期间，光系统Ⅱ（PSⅡ）可保持较高放氧活性，加入解偶联剂 CCCP 后，光系统Ⅱ（PSⅡ）光化学活性明显被抑制。王琳等[13]在 2015 年利用浮游植物荧光仪研究了不同浓度的重金属离子溶液对斜生栅藻的 6 个叶绿素荧光特性参数的影响，结果表明随着胁迫时间的延长，PSⅡ最大光能转化效率（F_v/F_m）下降，且下降幅度随时间的延长而逐步增大。

本文采用富集（浓缩）采样法和重量法（HJ 618—2011《环境空气 PM_{10} 和 $PM_{2.5}$ 的测定 重量法》）对雾霾吸收液和总悬浮颗粒物进行采集，并测定了微藻在雾霾吸收液和总悬浮颗粒物浸出液影响下的荧光参数值，主要对 Y(Ⅱ)，NPQ，qP，ETR，F_v/F_m 等 5 种荧光参数的变化进行了统计，从而可以得出微藻光合作用受到的影响程度，最终可快速准确地指示雾霾对微藻的生物毒性。

1　材料与方法

1.1　仪器与实验材料

1.1.1　仪器

主要仪器设备：水样叶绿素荧光仪（德国沃尔兹公司提供），大气采样器（青岛崂应环境科技有限公司提供），人工气候箱（天津市泰斯特仪器有限公司提供），荧光显微镜（德国卡尔·蔡司公司提供）。

1.1.2　实验藻种及培养条件

因蛋白核小球藻和铜绿微囊藻 2 种微藻具有对毒性物质响应敏感、实验室易培养的优点，被广泛用于毒性检测，所以本实验选择这 2 种藻作为实验的供试藻。蛋白核小球藻和铜绿微囊藻均取自中国科学院野生藻种库。

将适量藻液接种到无菌的 BG11 培养基中，进行预培养，取对数期的藻液进行实验。培养条件：温度为(25±1.0)℃，湿度为 75% RH，光照为 2 000 lx，时间设置为 12 h(昼)/12 h(夜)。藻种静置培养，每日定时人工摇动培养瓶 2 次，同时更改培养瓶位置，以免引起光照不足。

1.2　实验方法

1.2.1　雾霾提取物的采集

1)雾霾吸收液的采集

在污染天气下，量取 20 mL 的蒸馏水放入大气采样器的吸收瓶，连接装置，进行大气吸收液的采集，采集时间为 24 h，得到雾霾吸收液，并同时记录采样期间的空气质量情况。

2)总悬浮颗粒物的采集

在污染天气下，利用大气采样器进行总悬浮颗粒物(TSP)的采集，采集时间为 24 h。采样前后对采样膜进行称重，根据仪器给出的标准采样体积，得出当天的 TSP 的质量浓度，并同时记录采样期间的空气质量情况。

1.2.2　雾霾对藻类荧光效应影响的测定

1)雾霾吸收液对藻类荧光效应影响的测定

在微藻生长对数期（即培养 5～6 天），取藻液与雾霾吸收液按体积比 1∶1 进行混合并摇匀，同时设置空白组（蒸馏水代替吸收液）对照。混合液经暗置 15 min 后，用水样叶绿素荧光仪测定藻液叶绿素荧光动力学参数，包括光系统Ⅱ的最大光能转化效率(F_v/F_m)、光系统Ⅱ的实际光能转化效率(Y(Ⅱ))、光合电子传递速率(ETR)、光化学淬灭(qP)和非光化学淬灭(NPQ)，取其稳定值并记录，对比空白组与实验组各荧光参数的差异，得出雾霾吸收液对微藻的各荧光参数的影响效果。

2)总悬浮颗粒物对藻类荧光效应影响的测定

将采集的颗粒物滤膜剪碎后浸泡于 100 mL 蒸馏水中，30 min 后过滤，得到 TSP 浸出液。将浸出液和微藻培养液按体积比 1∶5 加入到 100 mL 藻液中，以胁迫处于对数期生长的微藻，并同时设置空白组（蒸馏水代替吸收液）对照。混合液培养 7 天。实验开始后每天固定时间取 0.1 mL 的藻液，用浮游生物计数框在显微镜下计数。同时，利用水样叶绿素荧光仪测定藻液叶绿素荧光动力学参数，记录藻细胞浓度（生物量）和各荧光参数在 7 天内的变化情况。

实验结果采用数据处理软件进行统计分析。

2　结　果

采样期间均为污染天气，具体空气质量情况见表 1。利用 2016-03-04 和 2016-03-05 的雾霾吸收液以及 2016-03-16 至 2016-03-18 的 TSP 浸出液进行实验。

2.1　雾霾吸收液对微藻叶绿素荧光参数的影响

雾霾吸收液对于蛋白核小球藻荧光参数的影响见表 2。从表中可以看出，雾霾吸收液对于蛋白核小球藻的荧光参数均有抑制作用，对比表 3 中各荧光参数的抑制率，可以发现，在雾霾吸收液的影响下 Y(Ⅱ)，ETR，qP，NPQ 和 F_v/F_m 参数值均有下降，其中 NPQ 下降明显。雾霾吸收液对铜绿微囊藻荧光参数的影响相对较弱（见表 4 和表 5）。

表1 2016年3月4日、5日、16日、17日、18日采样时的空气质量情况

Tab.1 Weather quality during the sampling period March 4，5，16，17，18 in 2016

日期	AQI指数	$\rho(PM_{2.5})$	$\rho(PM_{10})$	$\rho(SO_2)$	$\rho(NO_2)$	$\rho(O_3)$
2017-03-04	245	195	280	67	75	93
2017-03-05	143	60	218	34	47	87
2017-03-16	212	164	277	84	74	79
2017-03-17	209	160	267	80	84	52
2017-03-18	273	223	339	89	104	82

注：表中除AQI指数外，其余参数的单位均为$\mu g/m^3$。

表2 雾霾吸收液对于蛋白核小球藻荧光参数的影响

Tab.2 Effects of haze-absorbing solution on the fluorescence parameters of *Chlorella pyrenoidosa*

样品	荧光参数				
	Y(Ⅱ)	ETR	qP	NPQ	F_v/F_m
空白	0.616	28.5	0.786	0.067	0.796
2017-03-04	0.553	25.5	0.733	0.036	0.761
2017-03-05	0.531	24.5	0.691	0.040	0.770

表3 雾霾吸收液对蛋白核小球藻荧光参数的抑制率

Tab.3 Haze absorption liquid inhibition rate of *Chlorella pyrenoidosa* fluorescence parameters

样品	抑制率/%				
	Y(Ⅱ)	ETR	qP	NPQ	F_v/F_m
2017-03-04	10.2	10.5	6.7	46.3	4.4
2017-03-05	13.8	14.0	12.1	40.2	3.3

表4 雾霾吸收液对铜绿微囊藻荧光参数的影响

Tab.4 Effects of haze-absorbing solution on the fluorescence parameters of *Microcystis aeruginosa*

样品	荧光参数				
	Y(Ⅱ)	ETR	qP	NPQ	F_v/F_m
空白	0.406	18.8	0.874	0.080	0.463
2017-03-04	0.390	18.0	0.853	0.070	0.451
2017-03-05	0.401	18.5	0.858	0.072	0.460

表5 雾霾吸收液对铜绿微囊藻荧光参数的抑制率

Tab.5 Inhibition rate of *Microcystis aeruginosa* fluorescence parameters upon haze absorption liquid treatment

样品	抑制率/%				
	Y(Ⅱ)	ETR	qP	NPQ	F_v/F_m
2017-03-04	3.9	4.3	2.4	12.5	2.6
2017-03-05	1.2	1.6	1.8	10	0.6

2.2 TSP浸出液对微藻生长的影响

2016-03-16至2016-03-18的TSP采样数据如表6所示。

实验期间将实验组与空白组进行对比，可知TSP浸出液对2种藻的抑制作用明显，且随TSP质量浓度的增大，抑制作用越明显(见图1和图2)，并且2016-03-17样品的高质量浓度TSP(393.74 $\mu g/m^3$)对2种藻的抑制作用明显，培养5天后2种藻细胞密度分别仅为空白组的64%和73%，其余2个样品(2016-03-16和2016-03-18)所受影响相对较小。7天内，随着胁迫时间的延长，TSP浸出液对2种微藻的抑制效果没有持续

增强，说明雾霾颗粒物对 2 种微藻的持续性影响并不显著。

表 6　2016 年 3 月 16 日、17 日、18 日 TSP 的采集情况

Tab. 6　Collection condition of TSP in March 16，17，18 in 2016

日期	采样前质量/g	采样后质量/g	标准采样体积/L	ρ(TSP)/（μg・m^{-3}）
2016-03-16	0.432 2	0.484 5	158 502.3	329.96
2016-03-17	0.453 3	0.516 5	160 509.9	393.74
2016-03-18	0.450 9	0.483 3	159 227.3	203.48

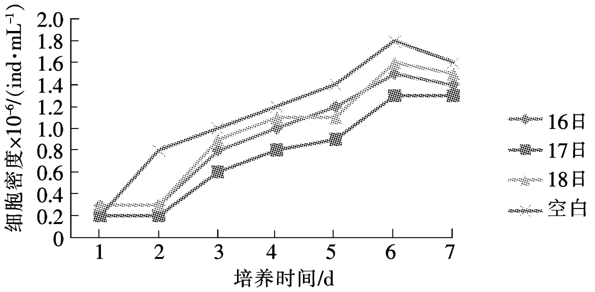

图 1　TSP 浸出液对蛋白核小球藻生长的影响

Fig. 1　Effect of TSP extract on the growth of *Chlorella pyrenoidosa*

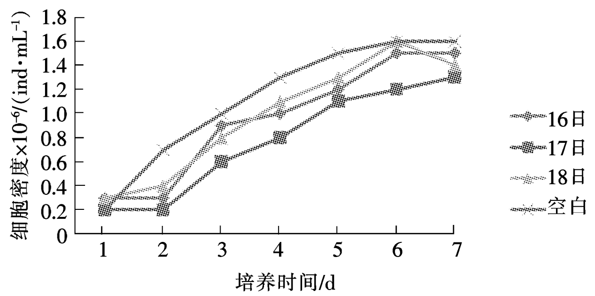

图 2　TSP 浸出液对铜绿微囊藻生长的影响

Fig. 2　Effect of TSP extract on growth of *Microcystis aeruginosa*

2.3　TSP 浸出液对微藻叶绿素荧光参数的影响

实验期间（1～7 天），空白组和实验组随着时间延长，蛋白核小球藻和铜绿微囊藻的 Y(Ⅱ)，NPQ，qP，ETR，F_v/F_m 均呈现先上升后下降的趋势（见图 3 和图 4）。实验开始后，与空白组对比，蛋白核小球藻的 NPQ 抑制作用明显。藻细胞经过一段时间的适应，对比各参数，后期蛋白核小球藻的 NPQ 相比第 3 天下降尤为明显，且实验组与空白组较为一致，分析原因可能与培养溶液中营养物质的耗尽、各类毒性物质的积累和细胞平台期的到来有关，由此可以得出 TSP 浸出液对蛋白核小球藻生长前期的影响较大。

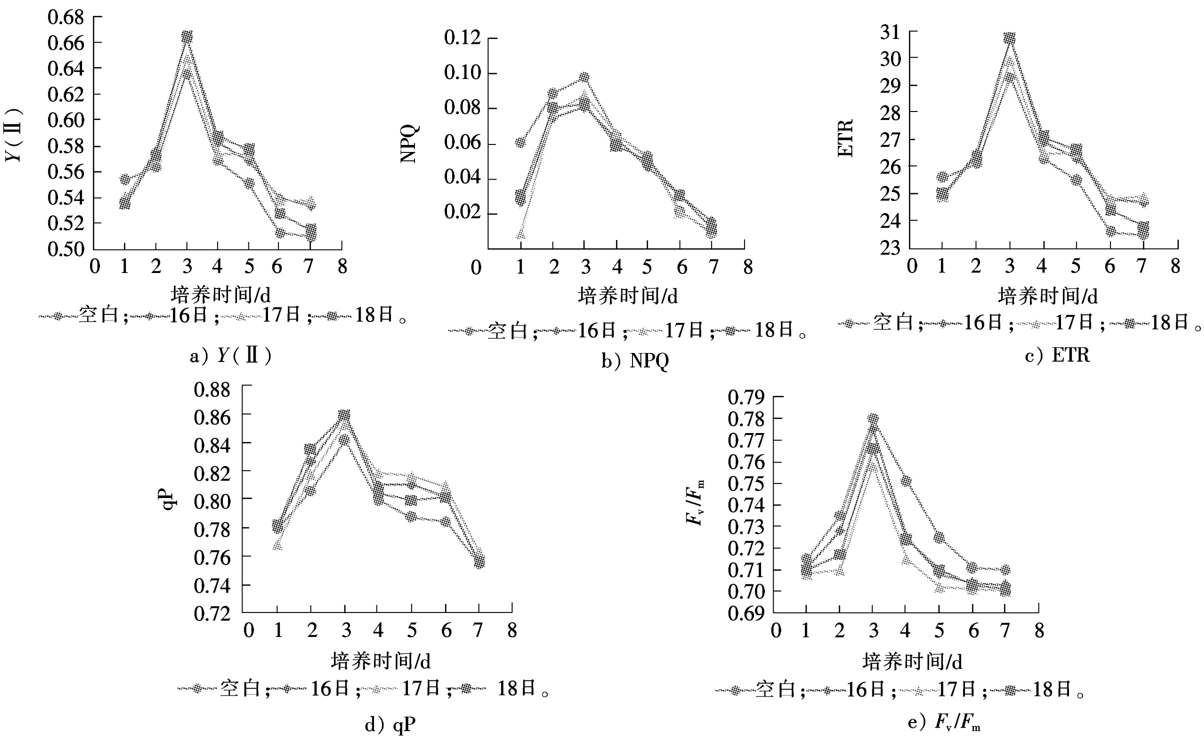

图 3　TSP 浸出液对蛋白核小球藻叶绿素荧光参数的影响

Fig. 3　Effect of TSP extract on chlorophyll fluorescence parameters of *Chlorella pyrenoidosa*

同时发现 TSP 浸出液对 Y(Ⅱ),ETR 和 qP 有较明显的促进作用,TSP 质量浓度越高,促进作用越强。该作用具有持续性,培养 4 天后仍具有较明显的作用。相比之下,蛋白核小球藻 NPQ 在培养 1 天后,实验组参数值为空白组的 20%~40%,TSP 浸出液对 2 种藻的 F_v/F_m 均呈现出不同程度的抑制作用,在非胁迫条件下该参数变化极小且不受物种和生长条件的影响,在胁迫条件下该参数下降明显[14]。

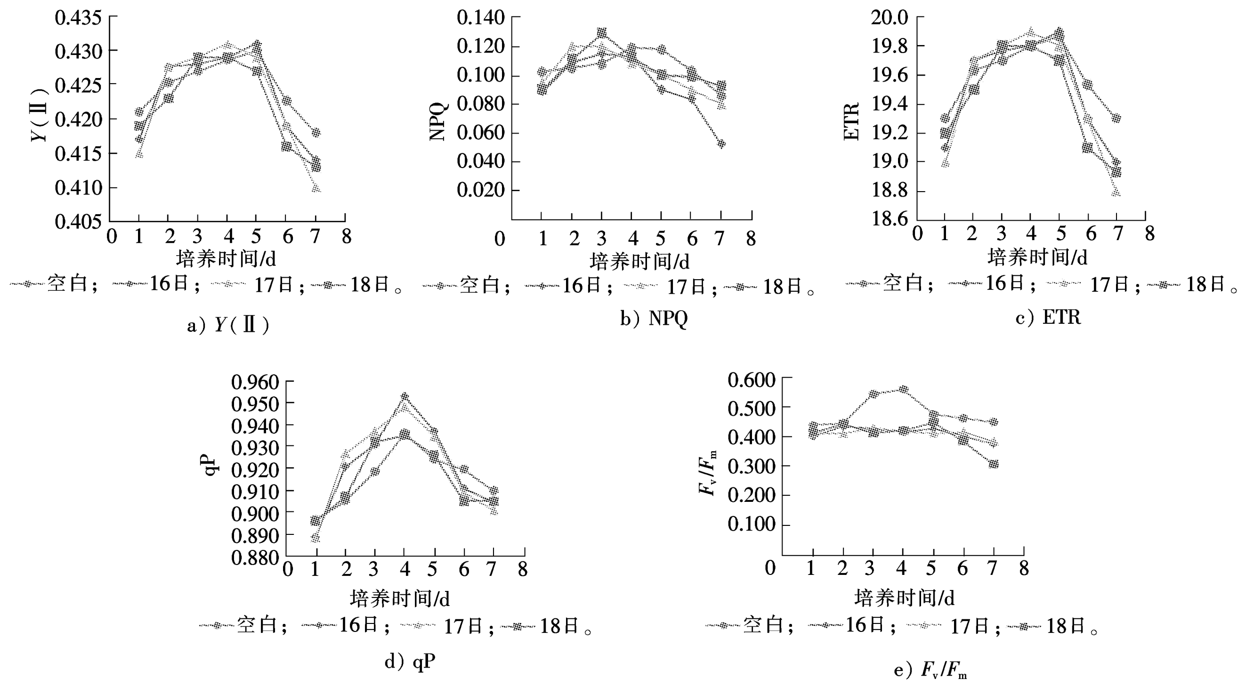

图 4 TSP 浸出液对铜绿微囊藻叶绿素荧光参数的影响

Fig. 4 Effect of TSP extract on chlorophyll fluorescence parameters of *Microcystis aeruginosa*

3 讨 论

雾霾 TSP 对 2 种藻的生长具有不同程度的抑制作用,但即使高浓度的 TSP 作用 7 天后,微藻的细胞密度仍可以上升至 1.3×10^6 ind/mL(见图 1 和图 2),结果表明高浓度的 TSP 并没有完全抑制 2 种藻的细胞生长和分裂,并且对 2 种藻没有致死效应。有研究指出,TSP 浸出液中化合物离子成分复杂含有一定的重金属离子,此外还有其他复杂化合物[15]。由此可以推测,在浸出液中许多复杂化合物容易被藻细胞吸附,随后可与藻细胞膜结合并进入细胞内部,从而影响微藻的一系列新陈代谢活动,最终可影响藻细胞的生长和分裂。

叶绿素荧光动力学方法可以快速、灵敏、无损伤地研究各种逆境条件下对植物光合生理的影响,通过各种荧光参数的分析,可以得到光合作用过程中的多种信息[16-17]。Y(Ⅱ)表示光系统Ⅱ的实际光合效率,反映光系统Ⅱ的实际光能转换效率、实际量子产量;NPQ 表示非光化学淬灭,反映光系统Ⅱ吸收的能量用于耗散为热量的比例,也就是植物耗散过剩光能为热量的能力,即光保护能力;ETR 表示光系统Ⅱ的相对电子传递速率,反映经过光系统Ⅱ的相对线性电子流速率;qP 表示光化学淬灭,反映光系统Ⅱ吸收的能量用于进行光化学反应的比例,而开放态的光系统Ⅱ反应中心所占的比例反映了光合活性的高低;F_v/F_m 表示光系统Ⅱ的最大光合效率,反映光系统Ⅱ的最大光能转换效率、最大量子产量。

雾霾吸收液在急性毒性实验中,Y(Ⅱ),ETR,NPQ,qP 和 F_v/F_m 的值均有所下降。可知光系统Ⅱ的热耗散能力处于较低水平,微藻细胞的光保护能力受到影响,光系统Ⅱ受到了干扰,导致微藻细胞的光化学反应下降以及藻细胞内的 NADPH 和 ATP 的形成减少,同时对碳的固定和同化能力下降,最终导致光系统Ⅱ的实际光能转换效率降低。

雾霾 TSP 在毒性胁迫实验中,对 2 种藻的 Y(Ⅱ),qP,ETR 有明显的促进作用,对 NPQ,F_v/F_m 则表现为抑制,结果表明 TSP 促进了 2 种藻的光能转化效率、实际光合效率和电子传递活性。反观 TSP 对 2 种藻的生长抑制,推测出 TSP 尽管能整体抑制 2 种藻的生长分裂,但也促进了单个细胞的光合效率。分析认为

藻细胞产生了抗逆性以适应新环境，从而表现出较强的光合效率[16]。有研究发现藻类在湖水底泥中可以很好地适应低温环境，而在高温条件下也可快速增殖分裂[19]。同时有研究发现，低温下三角褐指藻通过光合作用利用光能的能力受到抑制，影响了光合电子传递速率，但是第 5 天之后开始恢复，推测此现象与三角褐指藻的抗逆性较强有关[20]。也有研究发现，砷酸盐在抑制三角褐指藻生长的同时也会促进其光合活性[21]；但同时也有研究结果指出，Cu^{2+}，Zn^{2+}，Cd^{2+} 等重金属和石油泄露在抑制藻类生长的同时又会抑制其光合活性[22-25]。有些污染物胁迫能促进藻类 DNA，RNA 和蛋白质的合成，而有些污染物的胁迫则会使其降低[26-27]。以上这些结论需要进一步研究，目前可推断出藻类荧光变化规律不仅和胁迫物质有关，还与藻类个体之间的特异性差异有关，例如藻类细胞结构及其组成。实验结果表明，蛋白核小球藻相比铜绿微囊藻，其叶绿素荧光参数变化明显(例如参数 NPQ)，这是因为蛋白核小球藻细胞内含有丰富的叶绿素，细胞壁薄而均匀，细胞核明显，是一种具有高效光合作用能力的球形单细胞淡水藻。因此，蛋白核小球藻对生长环境变化的敏感性较强，且更适用于对污染物生物毒性的监测。

4　结　论

1) 比较 2 种微藻对雾霾提取物的敏感程度，可以发现蛋白核小球藻较敏感，因此可以选择蛋白核小球藻作为雾霾生物毒性的指示藻。

2) 蛋白核小球藻在 2016-03-04 和 2016-03-05 两天受雾霾吸收液的影响，叶绿素荧光参数 NPQ 分别下降了 46.3%和 40.2%，因此，可以选择蛋白核小球藻荧光参数 NPQ 作为对雾霾生物毒性的指示性参数。

3)TSP 浸出液对蛋白核小球藻和铜绿微囊藻的细胞密度抑制作用明显，并且 TSP 质量浓度越高，抑制作用越强。

4)TSP 浸出液对 2 种藻的 Y(Ⅱ)，qP 和 ETR 参数有较明显的促进作用，对 NPQ，F_v/F_m 则表现为抑制，且对 NPQ 抑制效果尤为明显。

参考文献/References：

[1] 徐建英，赵春桃，魏东斌. 生物毒性检测在水质安全评价中的应用[J]. 环境科学，2014，35(10)：3991-3997.
XU Jianying，ZHAO Chuntao，WEI Dongbin. Toxicity tests and their application in safety assessment of water quality [J]. Environmental Science，2014，35(10)：3991-3997.

[2] 刘杰. 生物毒性监测的荧光藻种的筛选和制备[D]. 石家庄：河北科技大学，2013.
LIU Jie. Screening and Sreparation of Biological Toxicity Monitoring the Fluorescence of Algae Species[D]. Shijiazhuang：Hebei University of Science and Technology，2013.

[3] GELLERT G. Sensitivity and significance of luminescent bacteria in chronic toxicity testing based on growth and bioluminescence[J]. Ecotoxicology & Environmental Safety，2000，45(1)：87-91.

[4] 吴泳标，张国霞，许玫英，等. 发光细菌在水环境生物毒性检测中应用的研究进展[J]. 微生物学通报，2010，37(8)：1222-1226.
WU Yongbiao，ZHANG Guoxia，XU Meiying，et al. Advance in the application of luminescent bacteria on inspecting ecotoxicity in water [J]. Institute Microbiology，2010，37(8)：1222-1226.

[5] 林志芬，于红霞，许士奋，等. 发光菌生物毒性测试方法的改进[J]. 环境科学，2001，22(2)：114-118.
LIN Zhifen，YU Hongxia，XU Shifen，et al. Modification of the *Photobacterium phosphoreum* toxicity test method [J] Environmental Science，2001，22 (2)：114-118.

[6] 刘国光，王莉霞，徐海娟，等. 水生生物毒性试验研究进展[J]. 环境与健康杂志，2004，21(6)：419-421.
LIU Guoguang，WANG Lixia，XU Haijuan，et al. The progress of aquatic toxicity test[J]. Journal of Environment and Health，2004，21(6)：419-421.

[7] 韩博平，韩志国，付翔. 藻类光合作用机理与模型[M]. 北京：科学出版社，2003.

[8] 徐小惠，段莉丽，崔建升. 铜绿微囊藻叶绿素荧光对 $HgCl_2$ 毒性响应特性的研究[J]. 河北科技大学学报，2013，34(5)：477-481.
XU Xiaohui，DUAN Lili，CUI Jiansheng. Study on the characteristics of *Microcystis aeruginosa* chlorophyll fluorescence responding on the toxicity of $HgCl_2$[J]. Journal of Hebei University of Science and Technology，2013，34 (5)：477-481.

[9] 田宝勇，徐小惠，程玉欣，等. 利用铜绿微囊藻荧光检测农药莠去津的生物毒性[J]. 河北工业大学学报，2013，42(3)：38-42.
TIAN Baoyong，XU Xiaohui，CHENG Yuxin，et al. The use of *Microcystis aeruginosa* chlorophyll fluorescence to test the biological toxicity of the pesticide atrazine [J]. Journal of Hebei University of Technology，2013，42(3)：38-42.

[10] EULLAFFROY P，VERNET G. The F684/F735 chlorophyll fluorescence ratio：A potential tool for rapid detection and determination of herbicide phytotoxicity in algae[J]. Water Research，2003，37(9)：1983-1990.

[11] 王丽，应波，鄂学礼. 三角褐指藻培养条件的选择[J]. 中国卫生检验杂志，2006，16(7)：777-779.
WANG Li，YING Bo，E Xueli. Optinization of culture conditions for phaeodactylum tricornutum [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology，2006，16 (7)：777-779.

[12] 冉春秋，张卫，虞星炬，等. 硫与间氯苯腙对海水绿藻 *Platymonas subcordiformis* 光照产氢特性的影响[J]. 太阳能学报，2008，29(8)：944-949.
RAN Chunqiu ，ZHANG Wei，YU Xingju，et al. Characterization of photobiological hydrogen production by marine green algae *Platymonas subcordiformis*[J]. Acta Energiae Solaris Sinica，2008，29(8)：944-949.

[13] 王琳，刘冉，李文慧，等. 不同重金属离子胁迫对斜生栅藻生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. 生态与农村环境学报，2015，31(5)：743-747.
WANG Lin，LIU Ran，LI Wenhui，et al. Effects of stresses of different heavy metals on growth and chlorophy Ⅱ fluorescence of *Scendesmus obliquus*[J]. Journal of Ecology and Rural Environment，2015，31(5)：743-747.

[14] 许大全，张玉忠，张荣铣. 植物光合作用的光抑制[J]. 植物生理学通讯，1992，28(4)：237-243.
XU Daquan，ZHANG Yuzhong，ZHANG Rongxi. Photo inhibition of photosynthesis in plants[J]. Plant Physiology Communications，1992，28(4)：237-243.

[15] 贾琳琳. 北方寒冷地区大气颗粒物污染特征及源解析研究[D]. 哈尔滨：哈尔滨工业大学，2014.
JIA Linlin. Study on Pollution Characteristics and Source Apportionment of Atmospheric Particles on the Northern Cold Region[D]. Harbin：Harbin Institute of Technology，2014.

[16] 陈建明，俞晓平，程家安. 叶绿素荧光动力学及其在植物抗逆生理研究中的应用[J]. 浙江农业学报，2006，18(1)：51-55.
CHEN Jianming，YU Xiaoping，CHENG Jiaan. The application of chlorophyll fluorescence kinetics in the study of physiological responses of plants to environmental stresses[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis，2006，18 (1)：51-55.

[17] STRASSER R J，SRIVASTAVA A，TSIMILLI-MICHAEL M，et al. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples[C]//Probing Photosynthesis Mechanism，Regulation & Adaptation. [S. l.]：[s. n.]，2000：445-483.

[18] 丁聪聪，徐年军，张琳，等. 水杨酸对蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)生长及抗逆相关基因的影响[J]. 海洋与湖沼，2015，46(6)：1451-1460.
DING Congcong，XU Nianjun，ZHANG Lin，et al. Effects of salicylic acid on growth and stress-related genes of *Chlorella pyrenoidosa* [J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica，2015，46(6)：1451-1460.

[19] 吴生才，陈伟民，高光. 太湖藻类抗逆性的初步研究[J]. 生态环境，2004，13(4)：500-502.
WU Shengcai，CHEN Weimin，GAO Guang. The adaptation of alga in Taihu Lake to limiting temperature，light and water [J]. Ecology and Environment，2004，13(4)：500-502.

[20] 姚琴，黄清辉，陈玲. 四种砷化合物对藻类生长及光合作用的影响——以三角褐指藻为例[J]. 安全与环境学报，2009，9(6)：13-16.
YAO Qin，HUANG Qinghui，CHEN Ling. Effects of four arsenic compounds on the algae growth and photosynthesis—A case study with *Phaeodactylum tricornutum*[J]. Journal Safety and Environment，2009，9(6)：13-16.

[21] 梁英，陈书秀，田传远，等. 温度对三角褐指藻叶绿素荧光特性及生长的影响[J]. 中国海洋大学学报，2008，38(3)：377-383.
LIANG Ying，CHEN Shuxiu，TIAN Chuanyuan，et al . Effect of temperature on the chlorophyll fluorescence parameters and growth of *Phaeodactylum tricornutum*[J]. Periodical of Ocean University of China，2008，38(3)：377-383.

[22] 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.
LIANG Ying，WANG Shuai，FENG Lixia，et al. Effects of heavy metals stress on growth and chlorophyll fluorescence of the *Phaeodactylum tricornutum*[J]. Marine Environmental Science，2009，28(4)：374-382.

[23] CARRERA-MARTCNEZ D，MATEOS-SANZ A，LÓPEZ-RODAS V，et al. Microalgae response to petroleum spill：An experimental model analysing physiological and genetic response of *Dunaliella tertiolecta*，(Chlorophyceae) to oil samples from the tanker *Prestige*[J]. Aquatic Toxicology，2010，97(2)：151-159.

[24] 王帅，梁英，冯力霞，等. 重金属胁迫对杜氏盐藻生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. 海洋科学，2010，34(10)：38-48.
WANG Shuai，LIANG Ying，FENG Lixia，et al. Effects of heavy metal exposure on the growth and chlorophyll fluorescence of *Dunaliella salina*[J] Marine Sciences，2010，34(10)：38-48.

[25] 梁英，王帅，冯力霞，等. 重金属胁迫对纤细角毛藻生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. 中国海洋大学学报，2008，38(1)：59-67.
LIANG Ying，WANG Shuai，FENG Lixia，et al. Effect of heavy metal stress on the growth and chlorophyll fluorescence of *Chaetoceros gracilis*[J]. Periodical of Ocean University of China，2008，38(1)：59-67.

[26] 陈兰周，刘永定，李敦海. 盐胁迫对爪哇伪枝藻(*Scytonema javanicum*)生理生化特性的影响[J]. 中国沙漠，2003，23(3)：285-288.
CHEN Lanzhou，LIU Yongding，LI Dunhai. Effects of salt stress on physiological and biochemical characteristics of *Scytonema javanicum*[J]. Journal of Desert Research，2003，23(3)：285-288.

[27] 王丽平，郑炳辉，孟伟. 荧蒽对两种海洋硅藻生长、SOD活力和MDA含量的影响[J]. 海洋通报，2008，27(4)：53-58.
WANG Liping，ZHENG Binghui，MENG Wei. Effects of fluoranthene on growth，SOD activity and MDA content of two marine diatoms [J]. Marine Science Bulletin，2008，27(4)：53-58.