

微囊藻生长及光合系统 II 对重金属镉的响应

冉小飞 刘瑞 白芳 施军琼 吴忠兴

(西南大学生命科学学院, 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆市三峡库区植物生态与资源重点实验室 重庆 400715)

THE RESPONSE ON THE GROWTH AND PHOTOSYSTEM II OF *MICROCYSTIS AERUGINOSA* TO CADMIUM, A HEAVY METAL

RAN Xiao-Fei, LIU Rui, BAI Fang, SHI Jun-Qiong and WU Zhong-Xing

(Key Laboratory of Eco-environments in Three Gorges Reservoir Region (Ministry of Education), Chongqing Key Laboratory of Plant Ecology and Resources Research in Three Gorges Reservoir Region, School of Life Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

关键词: 镉; 微囊藻; 叶绿素荧光动力学曲线(OJIP); 光合系统 II (PS II); 荧光参数

Key words: Cadmium; *Microcystis aeruginosa*; Chlorophyll fluorescence induction curve (OJIP); Photosystem II (PS II); Fluorescence parameter

中图分类号: Q948.11 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2015)03-0627-06

近年来,随着工农业及采矿业的迅速发展,重金属对水体环境的污染已经成为了全球性的环境问题^[1,2]。镉是生物有机体的非必需元素,在环境中以自由离子和配合物的形式存在,且易被浮游生物吸收。被吸收后的镉一部分随着浮游生物的死亡而进入沉积物,另一部分则随着食物链进行传递,最后被人体吸收,从而对人体产生毒害作用,因此被认为是最典型的一种重金属污染物^[3]。

研究表明镉能够抑制植物的生长,破坏叶绿素的合成,损害放氧复合体(OEC)锰稳定蛋白(MSP)的结构^[4],或取代放氧复合体中的Ca²⁺和叶绿素a的Mg²⁺等^[5]。水生微生物特别是藻类对镉的敏感性较强^[6]。镉能减少藻类叶绿素合成^[7],抑制藻类生长及光合电子传递^[8-11]。Guanzon等^[12]研究表明,镉对藻类生长及光合作用产生了显著地抑制作用。Neelam and Raj^[13]研究发现镉对藻的毒性部位在于PS II,然而周文兵等^[14]研究表明高浓度镉胁迫对微囊藻的毒性影响不在PS II和PS等部位。尽管关于藻类对镉的响应方面前人做了大量的工作,但是在以前的一些研究中,主要集中探讨了短时间Cd胁迫对藻的毒性效应及抗氧化酶活性的响应,但由于Cd浓度及

处理时间的不同产生的结论也呈现出较大的差异性。因此探讨Cd胁迫对藻类毒理学机制具有重要的意义。

JIP-测定(JIP-test)是以生物膜能量流动为基础建立的分析方法,它能较好的反映PS II反应中心及电子供体侧和受体侧的生理状态。在正常生理条件下,典型的快速叶绿素荧光诱导动力学曲线一般包括O-J-I-P等相,它记录了从起始荧光(F_0)到最大荧光(F_p 或 F_m)的整个变化过程^[15,16]。O-J-I-P曲线不仅能准确的反映了光合电子传递链中PQ库电子受体连续下降的过程^[15],而且其获得的JIP参数也能反映光合作用大量的信息,如: RC/CS_0 、 Φ_{P0} 、 ψ_0 、 Φ_{E0} 等荧光参数。微囊藻是国内外水体中最常见的水华蓝藻,其水华过程产生的大量生物量的危害及后续处理值得广泛关注^[17]。然而,针对Cd对微囊藻PS II荧光动力学及JIP-参数的研究未见报道。本研究是通过快速叶绿素a荧光诱导动力学曲线(OJIP)的变化,分析了在低、中、高三个水平胁迫至96h后,Cd对微囊藻PS II光合电子传递过程中的能量流动,反应活性中心及电子传递影响,从而揭示微囊藻对重金属Cd的光合响应机制,为进一步研究富营养化复合污染水体中藻类的重金属生物修复提供重要依据。

收稿日期: 2014-05-29; 修订日期: 2014-08-12

基金项目: 西南大学博士基金(SWU110065); 国家自然科学基金(31170372)资助

作者简介: 冉小飞(1990—),女,贵州沿河人;硕士研究生;主要从事藻类生态学研究。E-mail: 18883251847@163.com

通信作者: 吴忠兴(1975—),男,教授;主要从事藻类生理生态及分子系统学研究。E-mail: wuzhx@swu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 藻种培养

微囊藻(*Microcystis aeruginosa* FACHB-205)由中国科学院水生生物研究所淡水藻种库提供。藻种置光照培养箱中,以 MA 培养基静置培养,培养条件:光照强度 $30 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 温度 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, 光暗比 12 : 12。

1.2 Cd^{2+} 浓度设置

将培养至指数生长期藻种离心后,分别接入含有 250 mL 培养液的 500 mL 的锥形瓶中,接种 OD 为 0.1 左右。以灭菌过的 50 和 1000 mg/L Cd^{2+} 为母液,配制成 0.2、0.5、1、5、10 和 20 mg/L 的 6 个浓度。每个浓度组设置三个重复,以不含 Cd^{2+} 的 MA 培养基作为空白对照。每天定时摇动 3 次,使藻细胞充分与培养液接触。

1.3 叶绿素 a 含量的测定

将藻液胁迫培养至 96h, 每个处理各取 5 mL 的藻液进行离心, 6000 r/min, 离心 10min, 去除上清液, 接着将藻细胞用 90% 的丙酮在黑暗条件下提取 2 次, 每次 24h, 最后将提取液定容至 10 mL, 最后使用紫外分光光度计 UV-2550 在 750、663、645、630 nm 的波长下测定吸光度^[18]。

1.4 快速叶绿素荧光动力学曲线(OJIP)的测定

藻体胁迫培养 96h 后, 每个处理各取 2 mL 藻液置黑暗中暗适应 20min 后, 测定快速叶绿素荧光诱导动力学曲线(OJIP)。快速叶绿素荧光诱导动力学曲线采用植物效率分析仪测定(英国汉莎科技有限公司), 测定光强为 $3000 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 最大激发波长 650 nm, 记录了从 10 μs 到 2s 叶绿素荧光的变化过程, 从而准确记录 O-J-I-P 等相^[19]。藻细胞经充分暗适应后受光激发(20—50) μs 时处于初始相 O 相, 此时 PS II 反应活性中心处于完全开放状态, 所测得荧光为初始荧光 F_0 ^[20]。O-J 相的上升过程反映了光合作用的光化学阶段, J 相对应于 $F_{2 \text{ms}}$ 处的荧光, I 相时的荧光为 $F_{30 \text{ms}}$ ^[21]。PS II 反应活性中心(RC)处于完全关闭状态, 不再接受光量子, 荧光产量达到 F_p 或 F_m , P 相出现^[22], 大约在 500 ms—1 s 的时间范围内^[23]。K 相位于 O 相与 J 相之间, 此时的的荧光为 $F_{300 \mu\text{s}}$ ^[20]。快速叶绿素荧光动力学曲线由 O 点到 P 点的所有荧光需进行标准化, 以对数形式进行表示。通过 OJIP 曲线的变化, 获得了以下参数: RC/CS_0 、 Φ_{P_0} 、 ψ_0 、 Φ_{E_0} 、 ABS/RC 、 DI_0/RC 、 TR_0/RC 、 ET_0/RC 、 M_0 、 S_m 。快速叶绿素荧光动力学曲线(OJIP)的分析术语及公式如表 1 所示^[24]。

表 1 快速叶绿素荧光动力学曲线(OJIP)的分析及公式^[24]

Tab. 1 Formulae and terms used in the analysis of the O-J-I-P fluorescence induction dynamics curve^[24]

术语及公式 Formulae and term	含义 Illustration
$\Phi_{P_0} = 1 - F_0/F_m$	最大光化学效率($t = 0$ 时)
$\psi_0 = 1 - V_j$	捕获的激子将电子传递到电子传递链中超过 Q_A 的其他电子受体的概率($t = 0$ 时)
$\Phi_{E_0} = (1 - F_0/F_m) \cdot \psi_0$	用于电子传递的量子产额($t = 0$ 时)
$RC/CS_0 = \Phi_{P_0} \cdot (V_j/M_0) \cdot (ABS/CS_0)$	单位受光面积有活性反应中心的数量
$ABS/RC = M_0 \cdot (1/V_j) \cdot (1/\Phi_{P_0})$	单位反应中心吸收的光能
$DI_0/RC = (ABS/RC) - (TR_0/RC)$	单位反应中心耗散掉的能量($t = 0$ 时)
$TR_0/RC = M_0 \cdot (1/V_j)$	单位反应中心捕获的用于还原 Q_A 的能量($t = 0$ 时)
$ET_0/RC = M_0 \cdot (1/V_j) \cdot \psi_0$	单位反应中心捕获的用于电子传递的能量($t = 0$ 时)
$M_0 = 4 \cdot (F_{300\text{ms}} - F_0)/(F_m - F_0)$	荧光诱导曲线的初始斜率
$S_m = (\text{Area})/(F_m - F_0)$	OJIP 曲线和直线 $F = F_m$ 之间的标准化后的面积

1.5 数据统计分析

生物统计分析方法使用 SPSS 16.0 (IBM, USA) 进行单因素方差分析(One-way ANOVA)及 LSD 多重比较, $P < 0.05$ 时认为具有显著差异, 用*表示, $P < 0.01$ 时则认为有极显著差异, 用**表示。

2 结果

2.1 Cd^{2+} 对微囊藻叶绿素 a 含量的影响

在 96h 镉胁迫下, 微囊藻叶绿素 a 的含量随着 Cd^{2+} 浓度的增加而逐渐降低(图 1)。与对照相比, Cd^{2+} 浓度为 0.2 mg/L 时叶绿素 a 的含量没有显著的变化, 然而, 当 Cd^{2+} 浓度大于 0.5 mg/L 时, 叶绿素 a 的含量受到了显著抑制($P < 0.01$)。在 20 mg/L Cd^{2+} 浓度下, 微囊藻叶绿素 a 含量为对照的 12.67%。

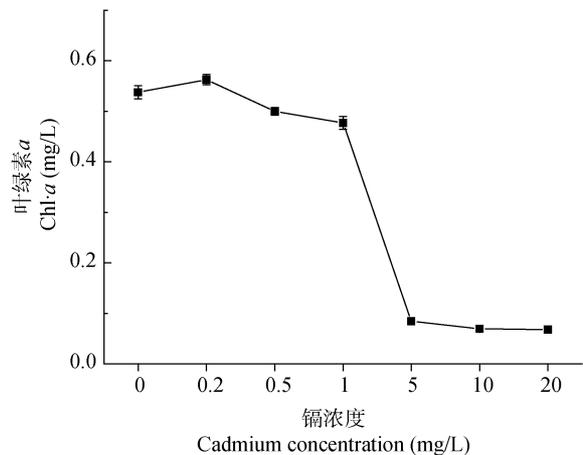


图 1 Cd^{2+} 对微囊藻叶绿素 a 含量的影响

Fig. 1 Effects of cadmium on Chl. a in *Microcystis aeruginosa*

2.2 快速叶绿素荧光诱导动力学曲线(O-J-I-P)

在不同 Cd^{2+} 浓度胁迫下, 微囊藻快速叶绿素荧光诱导动力学曲线(OJIP)的变化情况如图 2 所示。在低浓度 Cd^{2+} (0.2—1 mg/L) 培养下, 微囊藻的相对可变荧光没有显著变化, Cd^{2+} 浓度为 5 和 10 mg/L 时, 相对可变荧光显著高于对照, 且 I 相和 P 相消失。 Cd^{2+} 浓度为 20 mg/L 时, K 相出现, 但是 J、I、P 等相消失。

2.3 叶绿素荧光参数的变化

在不同 Cd^{2+} 浓度胁迫下, 微囊藻荧光参数单位受光面积的反应活性中心数量(RC/CS_0)、最大光化学效率(Φ_{P_0})、光照 2 ms 时有活性的反应中心开放程度(ψ_0)、反应中心吸收的光能用于电子传递的量子产额(Φ_{E_0})的变化分别如图 3 所示。由图 3 A 可知, 微囊藻 PS II 的 RC/CS_0 随着 Cd^{2+} 浓度增加而逐渐减少。与对照相比, Cd^{2+} 浓度为 0.2 mg/L 时, Cd^{2+} 对 RC/CS_0 没有显著影响, 当浓度高于 5 mg/L 时, 微囊藻 RC/CS_0 显著降低 ($P < 0.01$), 分别为对照的 16.53%、8%、4.84%。低浓度镉为 0.2 mg/L 时, Φ_{P_0} 显著高于对照 ($P < 0.05$), 但镉浓度高于 5 mg/L 时, Cd^{2+} 胁迫显著抑制了 PS II 的最大光化学效率 (Φ_{P_0}), 镉浓度为 20 mg/L 时, Φ_{P_0} 为空白对照的 6.76% (图 3B)。 ψ_0 随着 Cd^{2+} 浓度的增加表现了先减小后增加的趋势。当 Cd^{2+} 浓度小于 1 mg/L 时, ψ_0 没有显著变化, 但 Cd^{2+} 浓度为 5、10 mg/L 时, ψ_0 显著低于空白对照 ($P < 0.01$), 但 Cd^{2+} 浓度为 20 mg/L, ψ_0 显著高于对照, 为对照的 159.25% (图 3C)。微囊藻 Φ_{E_0} 的变化规律与 ψ_0 相似, Φ_{E_0} 随着 Cd^{2+} 浓度的增

加呈现了先减小后增加的趋势。当 Cd^{2+} 浓度为 5、10 mg/L 时, 微囊藻 Φ_{E_0} 分别为空白对照的 3.17%、1.27%, 当 Cd^{2+} 浓度为 20 mg/L 时, Φ_{E_0} 为对照的 10.71% (图 3D)。

微囊藻叶绿素荧光参数反应活性中心所捕获的光能 (ABS/RC)、反应活性中心耗散掉的能量 (DI_0/RC)、反应活性中心 (RC) 所捕获的激发能用于还原 Q_A 的能量 (使 Q_A 减少从而还原成 Q_A^- , TR_0/RC)、反应活性中心的捕获的光能用于电子传递的能量 ($Q_A^- - Q_B^- - PQ$, ET_0/RC) 的变化情况 (图 4)。与对照相比, 当镉浓度小于 1 mg/L, 微囊藻 ABS/RC 、 DI_0/RC 没有明显的变化, 在 Cd^{2+} 浓度高于 5 mg/L 条件下, 微囊藻 ABS/RC 和 DI_0/RC 显著高于对照 ($P < 0.01$)。与对照相比, 在 (0.2—10) mg/L 的 Cd^{2+} 浓度下, Cd^{2+} 对微囊藻 TR_0/RC 没有显著影响 ($P < 0.05$), 当 Cd^{2+} 浓度为 20 mg/L 时, TR_0/RC 显著高于对照 ($P < 0.01$), 为对照的 155.54%。 ET_0/RC 呈现不同的特征, 在 5、10 mg/L Cd^{2+} 浓度下, 微囊藻 ET_0/RC 下降, 分别为对照的 13.47%、12.82%, 而浓度为 20 mg/L 时, ET_0/RC 显著高于对照 ($P < 0.01$)。

在不同 Cd^{2+} 浓度胁迫下, 微囊藻 Q_A 的最大还原速率 (M_0)、 Q_A 完全被还原所需要的能量 (S_m) 的变化如图 5 所示。由图 5 A 可知, 与对照相比, 微囊藻 M_0 随着 Cd^{2+} 浓度的增大而逐渐增加。在 Cd^{2+} 浓度为 5、10 mg/L 条件下, 微囊藻的 M_0 分别为对照的 168.93%、179.85% ($P < 0.01$), 而在 20 mg/L 时, M_0 则显著降低 ($P < 0.01$)。 S_m 趋势则与 M_0 相反, 在 5、10 mg/L Cd^{2+} 浓度下, S_m 分别为对照组的 0.3%、0.25% ($P < 0.01$), 而 20 mg/L 时, S_m 则显著增加 ($P < 0.01$)。

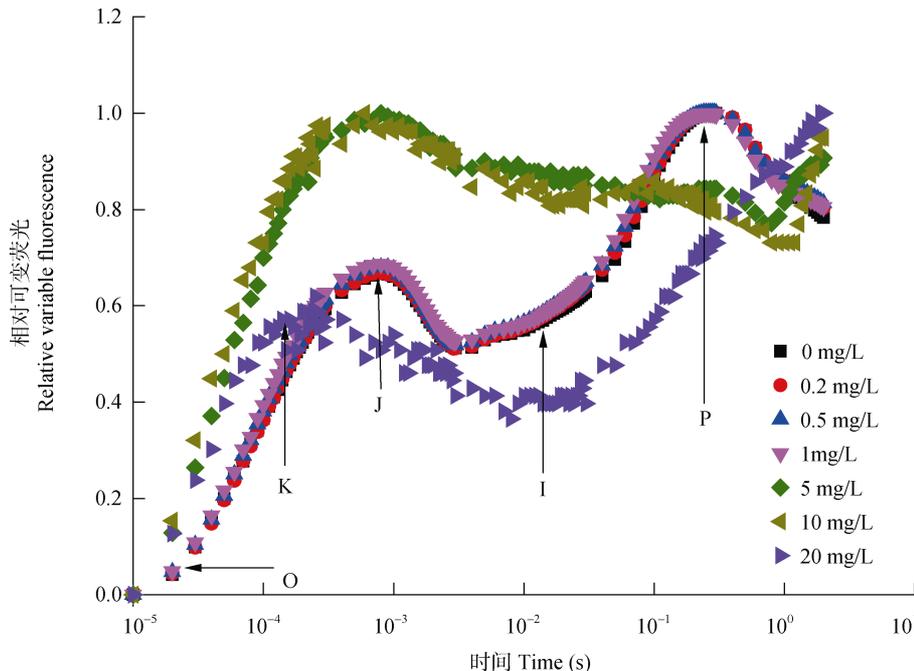


图 2 Cd^{2+} 对微囊藻快速叶绿素荧光诱导动力学曲线(OJIP)的影响

Fig. 2 Effect of cadmium on chlorophyll a fluorescence transients (OJIP) in *Microcystis aeruginosa*

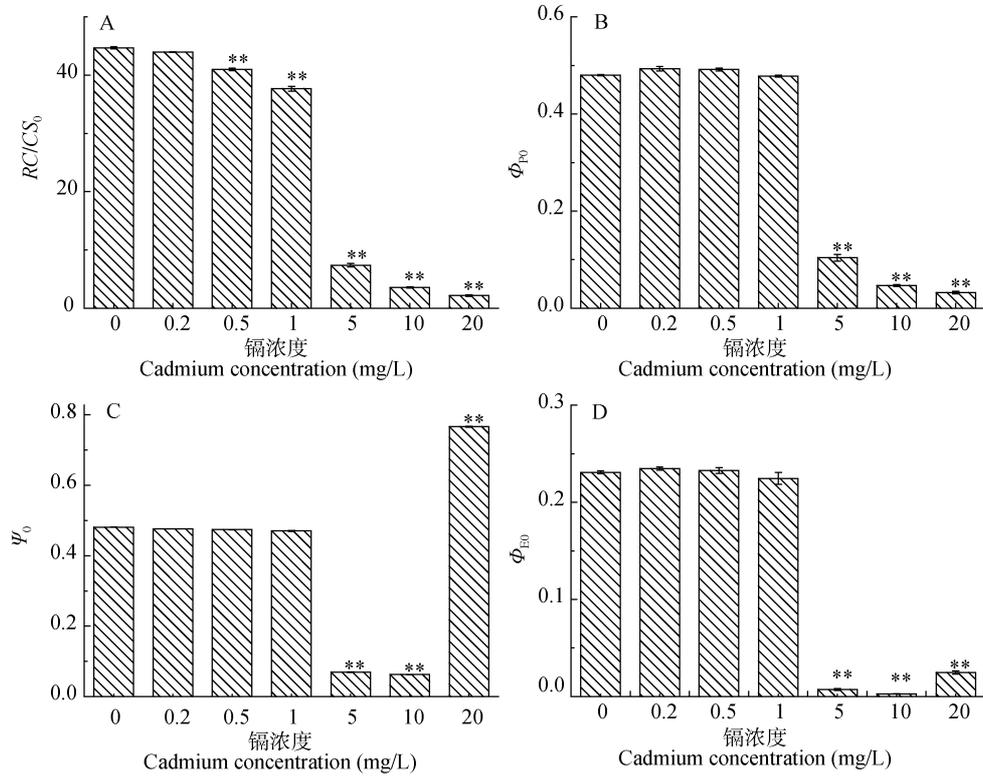


图 3 不同 Cd^{2+} 浓度对微囊藻 RC/CS_0 、 Φ_{P0} 、 ψ_0 、 Φ_{E0} 的影响

Fig. 3 Effects of cadmium on RC/CS_0 , Φ_{P0} , ψ_0 and Φ_{E0} in *Microcystis aeruginosa*

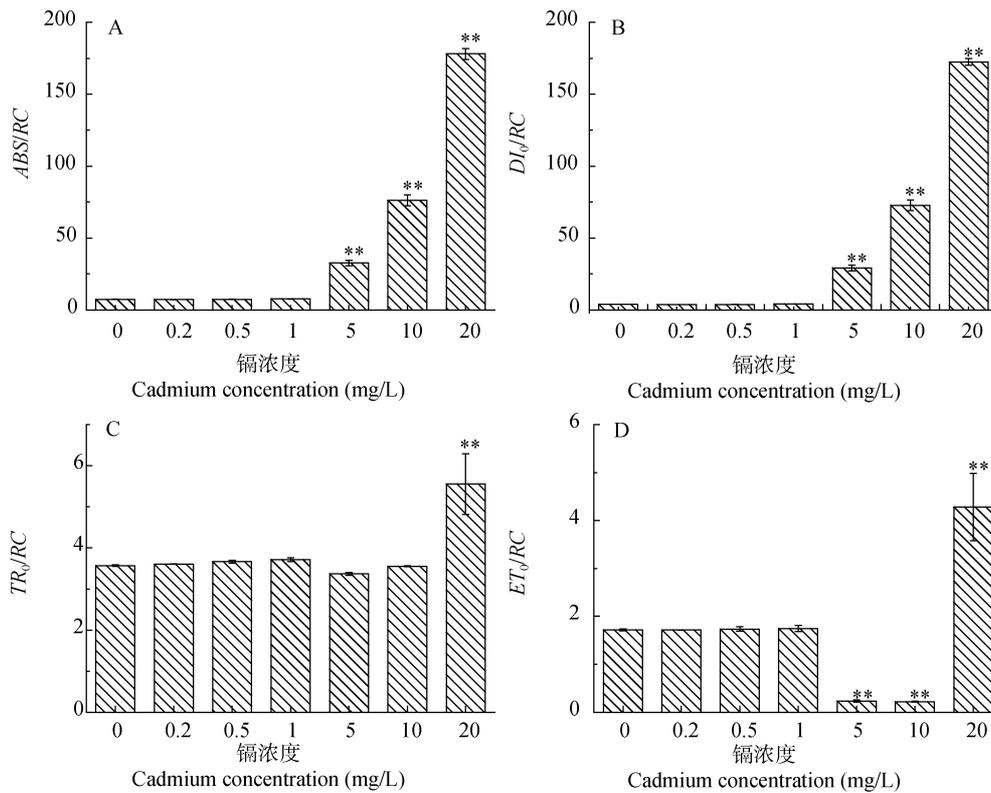


图 4 Cd^{2+} 对微囊藻 PS II ABS/RC 、 DI_0/RC 、 TR_0/RC 、 ET_0/RC 的影响

Fig. 4 Effects of cadmium on ABS/RC , DI_0/RC , TR_0/RC and ET_0/RC in *Microcystis aeruginosa*

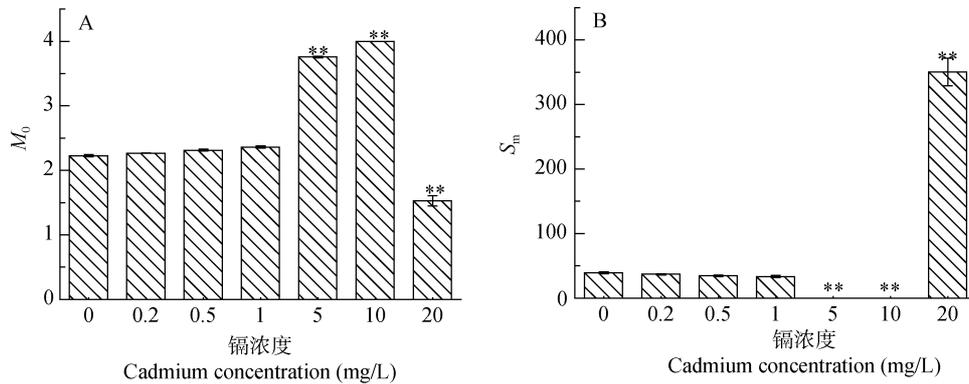


图5 在不同 Cd^{2+} 浓度胁迫下, 微囊藻 PS II M_0 、 S_m 的变化

Fig. 5 Changes of M_0 and S_m in *Microcystis aeruginosa* exposed to different concentrations of cadmium

3 讨论

周文兵等^[14]研究结果表明高浓度 Cd^{2+} 胁迫对微囊藻光合作用的抑制位点不在 PS II 或 PS 等部位, 只是抑制了光合色素 CPC 和 APC 的合成。然而, 本研究却发现高浓度 Cd^{2+} 胁迫降低了微囊藻 PS II 的光化学活性, 表明 Cd^{2+} 不仅对微囊藻 PS II 供体侧的电子供体和受体侧电子受体产生了毒害作用, 而且还降低了捕光色素的含量。相比周文兵等^[14]的研究, 本研究中镉对微囊藻的处理时间为 96h, 为其最长处理时间的两倍。因此, 可以推测短时间的 Cd^{2+} 处理对光合色素的合成产生了破坏, 但对 PS II 及 PS 中的电子传递过程没有影响, 但随着处理时间的延长, Cd^{2+} 对放氧复合体(OEC)及 PS II 电子传递产生了破坏作用, 导致微囊藻光合作用受到抑制。此外, 本研究也发现不同浓度 Cd^{2+} 胁迫对微囊藻生长及 PS II 光化学活性的影响不同。在低浓度 Cd^{2+} (0.2 mg/L) 胁迫下, Cd^{2+} 对微囊藻生长及 PS II 光化学活性没有显著影响, 支持了 Lukač 和 Aegerter^[15] 的结论, 即在低浓度镉(0.001—0.20 $\mu\text{mol/L}$) 胁迫下, 镉对藻的生长没有显著的影响。在中浓度 Cd^{2+} 胁迫下(0.5—1 mg/L), Cd^{2+} 对微囊藻 PS II 叶绿素 *a* 的合成及反应中心产生了抑制作用, 但对微囊藻的 PS II 的光能吸收及电子传递没有显著地影响。然而, 在高浓度 Cd^{2+} 胁迫下(5—10 mg/L), Cd^{2+} 对微囊藻的 PS II 的光能吸收及电子传递产生了显著地毒害作用, J 相迅速升高, I 相和 P 相消失。这些结果表明在中、高浓度条件下, Cd^{2+} 使 PS II 的反应活性中心(RC)上的 D_1 蛋白降解加剧^[16], 导致电子传递体特别是 Q_B 易从蛋白复合体上脱落下来, 使得 PS II 反应活性中心的数量大量减少并使大部分反应活性中心关闭, 导致了反应活性中心(RC)捕获的能量更多地用于 Q_A 还原为 Q_A^- , 减少了用于电子传递的能量, 进而抑制了 Q_A 到 Q_B 的电子传递, Q_A^- 大量积累, PQ 库的库容量减小^[20], 表现为 J 点升高^[25]。I 相时电子受体主要状态为 $\text{Q}_A^- \text{Q}_B^-$ ^[26], P 相时 Q_A 完全被还原, PS II 的反应活性中心完全关闭^[26]。I 相和 P 相消失是由于高浓度 Cd^{2+} 条件下, Cd^{2+} 对 PS II 电

子传递的产生了极大的破坏。当 Cd^{2+} 浓度为 20 mg/L 时, Cd^{2+} 对微囊藻 PS II 供体侧的电子供体和受体侧都的电子受体产生了毒害作用, 在此浓度下放氧复合体(OEC)受到了极大地破坏, K 相出现, 表明此浓度导致了锰簇复合可能从放氧复合体上的裂解下来^[27]。

综上所述, 高浓度 Cd^{2+} 胁迫破坏了 PS II 的反应活性中心, 使反应活性中心的数量降低及使部分反应活性中心关闭, 并且抑制了 PS II Q_A 到 PQ 库的电子传递, 受体侧的电子受体库容量(S_m)减小, 进而导致 J 点的升高。高 Cd^{2+} 浓度(20 mg/L)破坏了放氧复合体(OEC)的结构。因此, 镉对微囊藻的毒性效应主要表现为抑制 PS II 的反应中心和电子传递, 对 PS II 供体侧的电子供体和受体侧的电子受体都产生了毒害, 进而抑制了光合作用。

参考文献:

- [1] Beyer J, Jonsson G, Porte C, *et al.* Analytical methods for determining metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) pollutants in fish bile [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2010, **30**(3): 224—244
- [2] Qiu C E, Kuang Q J, Bi Y H, *et al.* The effect of Cd^{2+} on the growth and physiological characteristics of *Chlorococum* sp [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2007, **31**(1): 141—145 [邱昌恩, 况琪军, 毕永红, 等. Cd^{2+} 对绿球藻生长及生理特性的影响研究. 水生生物学报, 2007, **31**(1): 141—145]
- [3] Si D F, Yang L M, Yan H, *et al.* Cadmium accumulation mechanism and transformation pathways of *Phaeodactylum tricornutum* [J]. *Science China Chemistry*, 2010, **40**(2): 136—143 [斯冬芳, 杨利民, 严华, 等. 三角褐指藻对镉的富集机制和转化途径. 中国科学: 化学, 2010, **40**(2): 136—143]
- [4] Wang S H, Zhang D Y, Pan X X. Effects of cadmium on the activities of photosystems of *Chlorella pyrenoidosa* and the protective role of cyclic electron flow [J]. *Chemosphere*, 2013, **93**(2): 230—237
- [5] Faller P, Kienzler K, Krieger-Liszkay A. Mechanism of Cd^{2+} toxicity: Cd^{2+} inhibits photoactivation of Photosystem by

- competitive binding to the essential Ca^{2+} site [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2005, **1706**(1): 158—164
- [6] Pinto E, Morse D, Colepicolo P. Heavy metal-induced oxidative stress in algae [J]. *Phycology*, 2003, **39**(6): 1008—1018
- [7] Lamai C, Kruatrachue M, Pokethitiyook P, et al. Toxicity and accumulation of lead and cadmium in the filamentous green alga *Cladophora fracta* (O.F. Müller ex Vahl) Kützing: a laboratory study [J]. *Science Asia*, 2005, **31**(2): 121—127
- [8] Ou yang H L, Kong X Z, Lavoie M, et al. Photosynthetic and cellular toxicity of cadmium in *Chlorella vulgaris* [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2013, **32**(12): 2762—2770
- [9] Andosch A, Affenzeller M J, Lütz C, et al. A freshwater green alga under cadmium stress: Ameliorating calcium effects on ultrastructure and photosynthesis in the unicellular model *Micrasterias* [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2012, **169**(15): 1489—1500
- [10] Awad S, Chu T C. Effect of cadmium on the growth of *Chlamydomonas* [J]. *Journal of Young Investigators*, 2005, **13**(3): 416—420
- [11] Miao A, Wang W, Juneau P. Comparison of Cd, Cu and Zn toxic effects on four marine phytoplankton by pulse-amplitude-modulated fluorometry [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005, **24**(10): 2603—2611
- [12] Guanzon J N G, Nakahara H, Yoshida Y. Inhibitory effects of heavy metals on growth and photosynthesis of three freshwater microalgae [J]. *Fisheries Science*, 1994, **60**: 379—384
- [13] Neelam A, Rai L C. Differential responses of three cyanobacteria to UV-B and Cd [J]. *Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2003, **13**(4): 544—551
- [14] Zhou W B, Juneau P, Qiu B S. Growth and photosynthetic responses of the bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to elevated levels of cadmium [J]. *Chemosphere*, 2006, **65**(10): 1738—1746
- [15] Stirbet A. Chlorophyll a fluorescence induction: a personal perspective of the thermal phase, the J—I—P rise [J]. *Photosynthesis Research*, 2012, **113**(1—3): 15—61
- [16] Strasser R J, Srivastava A, Tsimilli-Michael M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Yunus M, Pathre U, Mohanty P (Eds), Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaptation. London: Taylor and Francis Press. 2000, 445—483
- [17] Ma W M, Sun L, Qian Z P, et al. Effects of three higher aquatic plants on the growth of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Journal of Shanghai Teachers University*, 2003, **32**(1): 101—104 [马为民, 孙莉, 钱志萍, 等. 三种高等水生植物对铜绿微囊藻生长的影响. 上海师范大学学报, 2003, **32**(1): 101—104]
- [18] Wei F S, Bi T. Water and Wastewater Monitoring and Analysis Methods [M]. Beijing: Chinese Environmental Science Press. 2002, 670—671 [魏复盛, 毕彤. 水和废水监测分析方法. 北京: 中国环境科学出版社. 2002, 670—671]
- [19] Venkatesh J, Upadhyaya C P, Yu J W, et al. Chlorophyll a fluorescence transient analysis of transgenic potato overexpressing D-galacturonic acid reductase gene for salinity stress tolerance [J]. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 2012, **53**(4): 320—328
- [20] Strasser B J. Donor side capacity of Photosystem II probed by chlorophyll a fluorescence transients [J]. *Photosynthesis Research*, 1997, **52**(2): 1147—1155
- [21] Sayed O H. Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research [J]. *Photosynthetica*, 2003, **41**(3): 321—330
- [22] Lazar D. Chlorophyll a fluorescence induction [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1999, **1412**(1): 1—28
- [23] Redillas M C F R, Strasser R J, Jeong J S, et al. The use of JIP test to evaluate drought-tolerance of transgenic rice overexpressing *OsNAC10* [J]. *Plant Biotechnology Reports*, 2011, **5**(2): 169—175
- [24] Strasser R J, Tsimilli-Michael M, Srivastava A. Analysis of the Chlorophyll a Fluorescence Transient [M]. In: Papageorgiou G and Govindjee (Eds), Advances in Photosynthesis and Respiration. Netherlands: KAP Press. 2004, 1—47
- [25] Ni L X, Acharya K, Hao X Y, et al. Effects of artemisinin on photosystem II performance of *Microcystis aeruginosa* by *in vivo* chlorophyll fluorescence [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2012, **89**(6): 1165—1169
- [26] Govindjee. Sixty-three years since Kautsky; Chlorophyll a fluorescence [J]. *Australian Journal of Plant Physiology*, 1995, **22**: 131—160
- [27] Antal T K, Kolacheva A, Maslakov A, et al. Study of the effect of reducing conditions on the initial chlorophyll fluorescence rise in the green microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Photosynthesis Research*, 2013, **114**(3): 143—154