

穗花狐尾藻化感作用对铜绿微囊藻光合效率的影响

朱俊英^{1,2}, 刘碧云^{1*}, 王静^{1,2}, 高云霓¹, 葛芳杰^{1,2}, 梁威¹, 张丽萍¹, 吴振斌^{1*}

(1. 中国科学院水生生物研究所淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 共培养条件下, 采用叶绿素含量和叶绿素荧光参数研究穗花狐尾藻分泌的化感物质对铜绿微囊藻光合效率的影响, 其中叶绿素荧光参数包括 q_N (非化学淬灭)、YII (有效量子效率)、 F_v/F_m (最大量子产量)、 F'_v/F'_m (光系统 II 有效量子产量) 和快速光响应曲线。3 d 共培养处理期间, 铜绿微囊藻叶绿素含量及叶绿素荧光参数都受到不同程度的影响, 不同参数表现出了不同的灵敏性。处理第 2 d 时, 10.0 g/L 穗花狐尾藻体系中铜绿微囊藻叶绿素含量抑制率为 20.80%, 表现出了显著的抑制 ($P < 0.05$)。而铜绿微囊藻叶绿素荧光参数出现显著降低的时间更早, 处理第 1 d 时, q_N 和 YII 在 5.0 g/L 穗花狐尾藻的浓度下抑制率分别为 15.59% 和 13.00%, F_v/F_m 和 F'_v/F'_m 在 10.0 g/L 的浓度下抑制率为 15.87% 和 12.07%, 均表现出来明显的抑制作用 ($P < 0.05$)。处理第 3 d 时, 铜绿微囊藻的快速光响应曲线及根据该曲线计算得到的 3 个参数都受到了显著的抑制 ($P < 0.05$)。结果表明, 光合作用是穗花狐尾藻抑制铜绿微囊藻生长的重要对象之一, 4 个叶绿素荧光参数是相对于叶绿素含量更灵敏的指标, 其中 q_N 最灵敏。

关键词: 穗花狐尾藻; 铜绿微囊藻; 叶绿素荧光参数; 化感作用; 共培养

中图分类号: X171 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2011)10-2904-05

Allelopathic Influence of *Myriophyllum spicatum* on the Photosynthetic Efficiency of *Microcystis aeruginosa*

ZHU Jun-ying^{1,2}, LIU Bi-yun¹, WANG Jing^{1,2}, GAO Yun-ni¹, GE Fang-jie^{1,2}, LIANG Wei¹, ZHANG Li-ping¹, WU Zhen-bin¹

(1. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The allelopathic influence of *Myriophyllum spicatum* on chlorophyll content and chlorophyll fluorescence parameters of *Microcystis aeruginosa* was studied in coexistence condition. Chlorophyll fluorescence parameters included q_N (non-photochemical quenching), YII (effective quantum yield), F_v/F_m (maximum quantum yield), F'_v/F'_m (effective quantum yield of photosystem II photochemistry) and ETR (electron transport rate). During the three days under coexistence condition, chlorophyll content and chlorophyll fluorescence parameters of *M. aeruginosa* were affected by *M. spicatum* and presented different sensitivities. Chlorophyll content of *M. aeruginosa* was significantly inhibited by 20.80% on the second day at 10.0 g/L of *M. spicatum* ($P < 0.05$). However, chlorophyll fluorescence parameters of *M. aeruginosa* decreased earlier and rapider than chlorophyll content. On the first day, q_N and YII of *M. aeruginosa* were significantly inhibited by 15.59% and 13.00% at 5.0 g/L of *M. spicatum* ($P < 0.05$), and F_v/F_m and F'_v/F'_m were declined by 15.87% and 12.07% at 10.0 g/L ($P < 0.05$), respectively. On the third day, ETR and three parameters based on ETR were affected at all levels of *M. spicatum* ($P < 0.05$). The inhibition effects on the photosynthetic activity of *M. aeruginosa* might be considered as one of the target sites of *M. spicatum* and chlorophyll fluorescence parameters were more sensitive parameters than chlorophyll content, especially q_N .

Key words: *Myriophyllum spicatum*; *Microcystis aeruginosa*; chlorophyll fluorescence parameters; allelopathy; coexistence condition

水生生态系统中, 水生植物的化感作用被认为是浅水湖泊等保持清澈的重要原因之一^[1]。水生植物产生的化感物质分泌释放到环境中并作用于浮游植物等目标生物, 如同其他的胁迫因子一样, 能干扰目标生物的细胞器膜透性、光合作用、影响一些酶的功能和活性、影响营养元素吸收及蛋白质表达等许多生理过程, 这些过程受到了越来越多的关注, 很多研究表明光合作用很有可能是这些化感物质的作用位点之一^[2~6]。

研究表明多种水生植物对浮游植物表现出了显著的化感抑制作用。穗花狐尾藻 (*Myriophyllum spicatum*)、轮叶狐尾藻 (*Myriophyllum verticillatum*)、苦草 (*Vallisneria spiralis*)、菖蒲 (*Acorus calamus*) 及马来眼子菜 (*Potamogeton malaianus*) 等对蓝藻、硅藻

收稿日期: 2010-11-25; 修订日期: 2011-01-26

基金项目: 中国博士后科学基金项目 (20080431013); 国家自然科学基金项目 (30870221, 20877093, 50808172)

作者简介: 朱俊英 (1981~), 女, 博士研究生, 主要研究方向水生生态学。

* 通讯联系人, E-mail: biyunliu@163.com; wuzb@ihb.ac.cn

和绿藻等多种浮游植物表现出了明显的抑制作用^[7-11]。穗花狐尾藻是湖泊等水体中常见的沉水植物,而且被证明对水华藻类具有较强的化感作用,并从其体内及其培养液中分离和鉴定出了对藻类具有抑制效应的酚酸类与脂肪酸类等物质,这些化感物质对水华藻类的生长及光合作用都表现出了较强的抑制作用^[7, 11, 12]。没食子酸、焦性没食子酸和 Tellimagrandin II 对浮游植物光系统 II 的活性表现出了显著的抑制^[13-15]。

虽然很多指标都能用来显示水生植物对藻类的化感抑制作用,但仍缺少灵敏的指标来监测水生植物对浮游植物的化感作用,监测指标的选择直接影响化感作用的监测结果。本实验模拟自然环境的共培养体系,以穗花狐尾藻为代表研究沉水植物对铜绿微囊藻叶绿素含量及叶绿素荧光参数的化感抑制作用,以期为监控沉水植物对浮游植物的化感作用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa* 905) 由中国科学院水生生物研究所淡水藻种库提供,采用 MⅢ培养基^[7]培养。培养条件为 $57 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光暗比为 12 h:12 h,温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 。预培养 4~7 d,处于对数增长期的藻用于实验。

穗花狐尾藻,采于湖北武汉月湖,洗净,于无菌 MⅢ培养基^[7]中预培养 15~20 d,每 5 d 更换一次培养基,培养条件同上。

1.2 实验方法

1.2.1 穗花狐尾藻与铜绿微囊藻共培养体系

穗花狐尾藻预培养后,选取长势相当的植株,称重,用无菌水冲洗数次以减少植物表面所携带的微生物,然后用已灭菌的细线将中间系住捆在一起,细线系的很松,不会影响水草的生长,最后将其置于装有 500 mL MⅢ培养基的 1 000 mL 锥形瓶中,最终湿重浓度为 2.5、5.0、10.0 g/L。将对数增长期的铜绿微囊藻加入锥形瓶中,藻的最终浓度为 1×10^6 个/mL。每天(第 0 d 除外)添加相当于 100 mL MⅢ培养基的营养盐浓缩液(浓缩 1 000 倍)。设置 3 个平行,培养条件同上,每天摇晃 3 次,取样 15 mL 进行分析,第 0 d 为培养 3 h 后取样。

1.2.2 铜绿微囊藻叶绿素含量的测定

铜绿微囊藻叶绿素含量用调制叶绿素荧光仪 (Phyto-PAM) 测定。叶绿素的含量与荧光值之间有

很好的线性相关性^[16],此方法在测定叶绿素含量时减少了研磨、提取等操作的损耗。

1.2.3 铜绿微囊藻叶绿素荧光参数的测定

叶绿素荧光参数用 Phyto-PAM 测定,步骤为:藻液暗适应 5 min,然后测定 F_0 ,打开光化光,光强为 $64 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,3 min 后给予饱和光测定 F_s 和 F'_m ,最后加入 DCMU [$10 \mu\text{mol/L}$ 3-(3, 4-dichlorophenyl)-1, 1-dimethylurea] 测定 F_m ^[17]。 F'_0 根据文献中报道的公式计算得出^[18],叶绿素荧光参数的计算公式参考文献^[19]。

$$q_N (\text{非化学淬灭}) = 1 - (F'_m - F'_0) / (F_m - F_0);$$

$$Y_{II} (\text{有效量子效率}) = (F'_m - F_s) / F'_m;$$

$$F_v / F_m (\text{最大量子产量}) = (F_m - F_0) / F_m;$$

$$F'_v / F'_m (\text{光系统 II 有效量子产量}) = (F'_m - F'_0) / F'_m.$$

1.2.4 铜绿微囊藻快速光响应曲线的测定

从 0~1 216 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 中设置 10 个不同的光强,测定共培养处理 3 d 后的铜绿微囊藻的快速光响应曲线。在每个光强下,光照射 10 s,然后给予饱和光测量量子产量 (Y),最后根据公式:电子传递速率 (ETR) = $Y \times I_i \times \text{AF} \times 0.5$ 计算,式中, I_i 代表测量 Y 时的光强,AF 代表吸收率(一般为 0.84),0.5 代表假定的吸光色素在光系统 I 和光系统 II 之间的分配比例。快速光响应曲线,是 ETR 随光强的变化图,根据曲线变化还可以得出 3 个不同的指标:Alpha,初始斜率,反映了样品对光能的利用效率;ETR_{max},最大光合速率,即最大相对电子传递速率; I_k ,半饱和光强,反映了样品对强光的耐受能力。

2 结果与分析

2.1 穗花狐尾藻对铜绿微囊藻叶绿素含量的影响

不同质量浓度的穗花狐尾藻对铜绿微囊藻叶绿素含量的影响如图 1 所示,结果表明,第 2 d 时,10.0 g/L 的穗花狐尾藻对铜绿微囊藻叶绿素含量抑制率达到了 20.80%,表现出了显著的影响 ($P < 0.05$)。第 3 d 时,穗花狐尾藻对铜绿微囊藻叶绿素含量的抑制更加明显,在最低浓度即 2.5 g/L 下,穗花狐尾藻对铜绿微囊藻叶绿素含量的抑制率也达到了 24.52%,表现出了明显的抑制作用 ($P < 0.05$)。可以看出,穗花狐尾藻对铜绿微囊藻叶绿素含量的抑制效应随浓度的增加及时间的延长,有逐渐增加的趋势。

2.2 穗花狐尾藻对铜绿微囊藻叶绿素荧光参数的影响

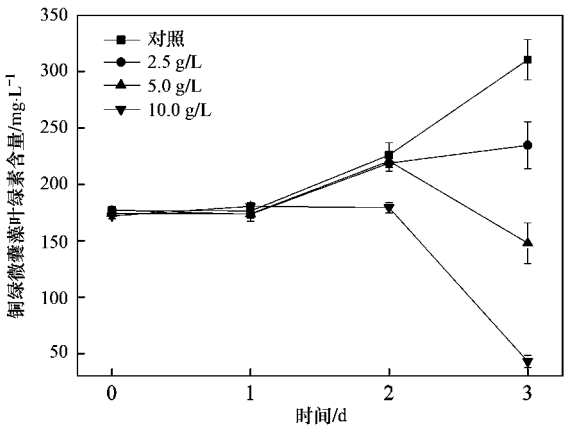


图 1 穗花狐尾藻对铜绿微囊藻叶绿素含量的影响
Fig. 1 Effect of *M. spicatum* on the chlorophyll content of *M. aeruginosa*

不同质量浓度的穗花狐尾藻对铜绿微囊藻叶绿素荧光参数的影响如图 2, 结果表明, 第 1 d 时, 5.0 g/L 穗花狐尾藻对铜绿微囊藻 q_N 和 YII 的抑制率分别为 15.59% 和 13.00%, 抑制作用显著 ($P <$

0.05), F_v/F_m 和 F'_v/F'_m 在该穗花狐尾藻浓度下的抑制率分别为 7.61% 和 6.67%, 与对照没有显著差异 ($P > 0.05$). 而在第 1 d 时, 10.0 g/L 穗花狐尾藻对铜绿微囊藻 F_v/F_m 和 F'_v/F'_m 的抑制率分别为 15.87% 和 12.07%, 抑制作用显著 ($P < 0.05$). 比较而言, 铜绿微囊藻叶绿素荧光参数较叶绿素含量更为灵敏, 即叶绿素荧光参数出现明显抑制的时间较叶绿素含量出现显著抑制的时间要早, 而且随着浓度的增加和时间的延长, 这种抑制作用逐渐加强.

2.3 穗花狐尾藻对铜绿微囊藻光响应曲线的影响
与穗花狐尾藻共培养 3 d 后, 铜绿微囊藻快速光响应曲线的变化如图 3 所示, 根据该曲线计算得到的另外 3 个指标如表 1 所示. 图 3 表明, 铜绿微囊藻快速光响应曲线在穗花狐尾藻 3 个浓度的作用下, 都受到显著的抑制 ($P < 0.05$), 根据曲线所得到的 Alpha、 ETR_{max} 和 I_k 也受到了不同程度的抑制 (表 1), 穗花狐尾藻的浓度越高抑制越明显, 最高的抑制率分别达到了 72.41%、87.10% 和 55.18%.

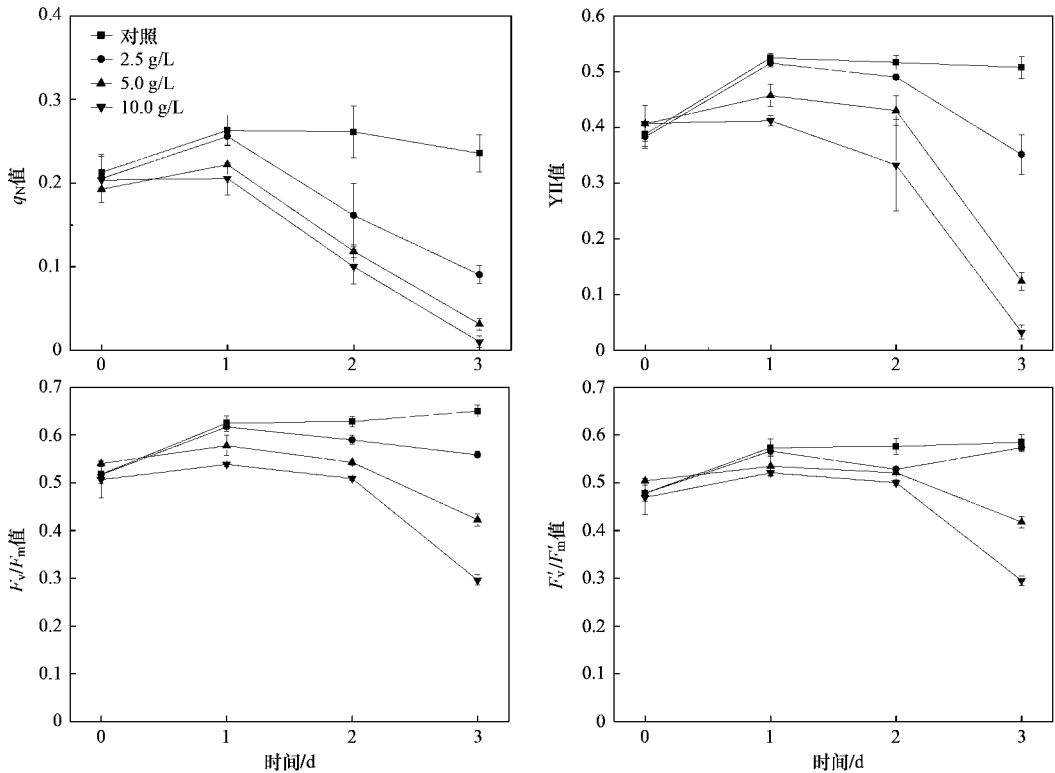


图 2 穗花狐尾藻对铜绿微囊藻叶绿素荧光参数的影响
Fig. 2 Effect of *M. spicatum* on the chlorophyll fluorescence parameters of *M. aeruginosa*

3 讨论

光合作用是生态系统中能量流动和物质传递的

重要环节, 影响光合作用的效率可以有效控制生物量的增加. 很多实验也证实了水生植物对藻类光合效率有显著的抑制作用^[7, 11, 20]. 光系统 II 被认为是

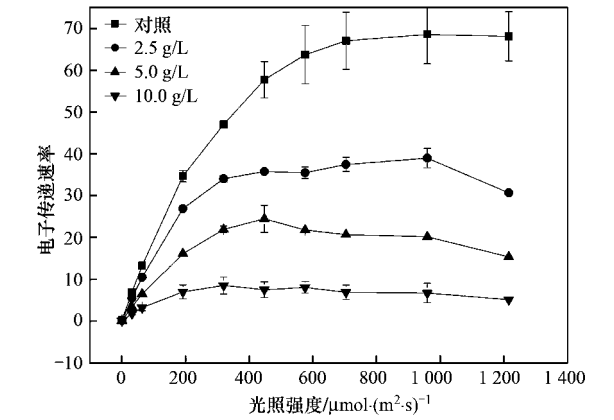


图3 共培养第3 d时穗花狐尾藻对铜绿微囊藻快速光响应曲线的影响

Fig. 3 Effect of *M. spicatum* on the electron transport rate of *M. aeruginosa* on the third day

表1 共培养第3 d时穗花狐尾藻对铜绿微囊藻快速光响应曲线参数的影响¹⁾

in coexistence condition			
项目	Alpha	ETR _{max}	I _k
对照	0.232 ± 0.011 ^a	68.77 ± 8.54 ^a	318.10 ± 62.24 ^a
2.5 g/L	0.185 ± 0.001 ^b	39.83 ± 1.36 ^b	193.60 ± 11.66 ^b
5.0 g/L	0.118 ± 0.006 ^c	25.40 ± 1.91 ^c	204.80 ± 0.52 ^b
10.0 g/L	0.064 ± 0.009 ^d	8.87 ± 1.26 ^d	142.57 ± 1.40 ^c

1) 同一列中,不同字母间表示有显示差异(a~d)(*P* < 0.05)

化感物质等外源物质作用于目标对象的位点之一.水生植物分泌的化感物质对藻类光合作用的影响有:降低藻类的叶绿素含量、影响酶活和抑制光合系统电子传递链活性等,减少藻类光合作用的同化产物,从而抑制其生长.本实验结果表明,穗花狐尾藻分泌的化感物质明显的降低了铜绿微囊藻叶绿素含量及叶绿素荧光参数(图1和图2),说明铜绿微囊藻的光合效率受到了穗花狐尾藻分泌的化感物质的显著抑制,光合作用是穗花狐尾藻抑制铜绿微囊藻生长的重要对象之一.与粉绿狐尾藻(*Myriophyllum aquaticum*)、水葫芦(*Eichhornia crassipes*)和金鱼藻(*Ceratophyllum demersum*)等水生植物共培养后,集胞藻(*Synechocystis* sp.)吸收光谱及其特征吸收峰发生改变,表明水生植物释放的化感物质可改变受试藻类叶绿素a和藻胆蛋白(包括藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白)的特征吸收峰,降低藻细胞对光的吸收能力,最终影响藻类的生长^[20].

本研究发现叶绿素荧光参数是相对于叶绿素含量更灵敏的指标,而且不同的叶绿素荧光参数表现

出的灵敏程度不同.在很多毒性测试中,叶绿素荧光参数也表现了相对较高的灵敏性,而且这些参数的灵敏性与其所反映的光合过程有关^[21~24].*q_N*是可变叶绿素荧光非化学淬灭的典型指标,反应样品从暗适应状态下到光适应状态下的一系列的非化学过程对叶绿素荧光发射的影响,这些非化学过程包括光抑制、跨膜质子梯度的变化等^[19, 25].*Y_{II}*是光系统II光化学能量转化的有效量子效率,评估光系统II天线系统吸收的能量用于光合作用的比例,这个比例越高表明PSII的光合作用效率越高^[17, 26].*F_v/F_m*指PSII的最大光化学量子产量,是对光系统II光化学反应可能达到的最大产量的评估,是研究外界环境胁迫等因素对光合作用影响的重要指标^[27].*F'_v/F'_m*是光化学的有效量子产量,表示开放的反应中心捕获激发能的效率^[19].本实验结果表明,在这4个叶绿素个荧光参数中,*q_N*是最灵敏的指标,共培养的第1 d在5.0 g/L穗花狐尾藻浓度下抑制率最高(15.59%),这与非化学淬灭反映了植物耗散过剩光能自我保护的能力相呼应,当胁迫不是很严重时,藻类可以通过非化学淬灭来消耗掉过剩的光能,从而保护光合系统,但当胁迫加重时,这种自我保护作用会降低,光合系统就容易受到破坏,随着非化学淬灭保护能力的下降、胁迫时间的延长及强度的增加,铜绿微囊藻其余的叶绿素荧光参数也随之下降,最后表现为光合能力的下降和生物量的降低.

共培养第3 d时,快速光响应曲线均受到了明显的抑制,3个指标也显著降低了,说明铜绿微囊藻的光合能力明显降低,光能的利用率及对强光的耐受能力都显著降低,与连续监测的共培养结果相一致.快速光响应曲线与光合作用放氧和CO₂吸收有很好的线性关系,因此在一定光强范围内可以反映植物的光合作用能力,曲线及其参数的降低可能是由于光系统II反应中心活性的降低或1,5-二磷酸核酮糖羧化酶活性的降低^[28, 29].

4 结论

光合作用是穗花狐尾藻分泌的化感物质抑制铜绿微囊藻生长的位点之一.叶绿素荧光参数是相对于叶绿素含量更灵敏的指标,而且不同的参数表现出了不同的灵敏性,非化学淬灭参数*q_N*最灵敏.

致谢:张甬元先生、刘保元先生、周巧红副研究员及贺锋研究员对本研究提出许多指导意见,在此谨表谢意.

参考文献:

- [1] Hilt S, Gross E M. Can allelopathically active submerged macrophytes stabilize clear-water states in shallow lakes? [J]. Basic and Applied Ecology, 2008, **9**(4): 422-432.
- [2] Inderjit, Duke S O. Ecophysiological aspects of allelopathy [J]. Planta, 2003, **217**(4): 529-539.
- [3] Belz R G, Hurle K. A novel laboratory screening bioassay for crop seeding allelopathy [J]. Journal of Chemical Ecology, 2004, **30**(1): 175-198.
- [4] Wu Z, Deng P, Wu X, et al. Allelopathic effects of the submerged macrophyte *Potamogeton malaianus* on *Scenedesmus obliquus* [J]. Hydrobiologia, 2007, **592**(1): 465-474.
- [5] 李锋民, 胡洪营, 种云霄, 等. 芦苇化感物质对藻类细胞膜选择透性的影响[J]. 环境科学, 2007, **28**(11): 2453-2456.
- [6] Hong Y, Hu H Y, Xie X, et al. Gramine-induced growth inhibition, oxidative damage and antioxidant responses in freshwater cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* [J]. Aquatic Toxicology, 2009, **91**(3): 262-269.
- [7] Körner S, Nicklisch A. Allelopathic growth inhibition of selected phytoplankton species by submerged macrophytes [J]. Journal of Phycology, 2002, **38**(5): 862-871.
- [8] 鲜啟鸣, 陈海东, 邹惠仙, 等. 四种沉水植物的克藻效应[J]. 湖泊科学, 2005, **17**(1): 75-80.
- [9] Xian Q, Chen H, Zou H, et al. Allelopathic activity of volatile substance from submerged macrophytes on *Microcystis aeruginosa* [J]. Acta Ecologica Sinica, 2006, **26**(11): 3549-3554.
- [10] 吴晓辉, 张兵之, 邓平, 等. 马来眼子菜化感作用对斜生栅藻同工酶的影响[J]. 武汉植物学研究, 2007, **25**(5): 479-483.
- [11] Bauer N, Blaschke U, Beutler E, et al. Seasonal and interannual dynamics of polyphenols in *Myriophyllum verticillatum* and their allelopathic activity on *Anabaena variabilis* [J]. Aquatic Botany, 2009, **91**(2): 110-116.
- [12] Saito K, Matsumoto M, Sekine T, et al. Inhibitory substances from *Myriophyllum brasiliense* on growth of blue-green algae [J]. Journal of Natural Products, 1989, **52**(6): 1221-1226.
- [13] Gross E M, Meyer H, Schilling G. Release and ecological impact of algicidal hydrolysable polyphenols in *Myriophyllum spicatum* [J]. Phytochemistry, 1996, **41**(1): 133-138.
- [14] Leu E, Krieger-Liszka A, Goussias C, et al. Polyphenolic allelochemicals from the aquatic angiosperm *Myriophyllum spicatum* inhibit photosystem II [J]. Plant Physiology, 2002, **130**(4): 2011-2018.
- [15] Zhu J, Liu B, Wang J, et al. Study on the mechanism of allelopathic influence on cyanobacteria and chlorophytes by submerged macrophyte (*Myriophyllum spicatum*) and its secretion [J]. Aquatic Toxicology, 2010, **98**(2): 196-203.
- [16] Jakob T, Schreiber U, Kirchesch V, et al. Estimation of chlorophyll content and daily primary production of the major algal groups by means of multiwavelength-excitation PAM chlorophyll fluorometry: performance and methodological limits [J]. Photosynthesis Research, 2005, **83**(3): 343-361.
- [17] Campbell D, Hurry V, Clarke A K, et al. Chlorophyll fluorescence analysis of cyanobacterial photosynthesis and acclimation [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 1998, **62**(3): 667-683.
- [18] Oxborough K, Baker N R. Resolving chlorophyll *a* fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and non-photochemical components—calculation of q_p and F_v'/F_m' without measuring F'_0 [J]. Photosynthesis Research, 1997, **54**(2): 135-142.
- [19] Roháček K, Barták M. Technique of the modulated chlorophyll fluorescence: basic concepts, useful parameters, and some applications [J]. Photosynthetica, 1999, **37**(3): 339-363.
- [20] 吴程, 常学秀, 吴锋, 等. 高等水生植物对集胞藻 (*Synhlocystis* sp.) 的化感作用研究[J]. 云南大学学报(自然科学版), 2008, **30**(5): 535-540.
- [21] Lu C M, Chau C W, Zhang J H. Acute toxicity of excess mercury on the photosynthetic performance of cyanobacterium, *S. platensis*- assessment by chlorophyll fluorescence analysis [J]. Chemosphere, 2000, **41**(1-2): 191-196.
- [22] Dewez D, Geoffroy L, Vernet G, et al. Determination of photosynthetic and enzymatic biomarkers sensitivity used to evaluate toxic effects of copper and fludioxonil in alga *Scenedesmus obliquus* [J]. Aquatic Toxicology, 2005, **74**(2): 150-159.
- [23] Macedo R S, Lombardi A T, Omachi C Y, et al. Effects of the herbicide bentazon on growth and photosystem II maximum quantum yield of the marine diatom *Skeletonema costatum* [J]. Toxicology in Vitro, 2008, **22**(3): 716-722.
- [24] Knauer S, Singer H, Hollender J, et al. Phytotoxicity of atrazine, isoproturon, and diuron to submersed macrophytes in outdoor mesocosms [J]. Environmental Pollution, 2010, **158**(1): 167-174.
- [25] Buffoni M, Testi M G, Pesaresi P, et al. A study of the relation between CP29 phosphorylation, zeaxanthin content and fluorescence quenching parameters in *Zea mays* leaves [J]. Physiologia Plantarum, 1998, **102**(2): 318-324.
- [26] Henriques F S. Leaf Chlorophyll Fluorescence: Background and Fundamentals for Plant Biologists [J]. The Botanical Review, 2009, **75**(3): 249-270.
- [27] Kummerová M, Krulová J, Zezulka Š, et al. Evaluation of fluoranthene phytotoxicity in pea plants by Hill reaction and chlorophyll fluorescence [J]. Chemosphere, 2006, **65**(3): 489-496.
- [28] Beer S, Vilenkin B, Weil A, et al. Measuring photosynthetic rates in seagrasses by pulse amplitude modulated (PAM) fluorometry [J]. Marine Ecology Progress Series, 1998, **174**: 293-300.
- [29] Seródio J, Vieira S, Cruz S, et al. Short-term variability in the photosynthetic activity of microphytobenthos as detected by measuring rapid light curves using variable fluorescence [J]. Marine Biology, 2005, **146**(5): 903-914.