

Effects of Pesticides Cypermethrin and Diflubenzuron on the Physiological Metabolism of *Microcystis aeruginosa*

Li Wu¹, Shanshan Li¹, Lu Fu¹, Jianhong Li^{1*}, Lin Wang¹, Jingwei Li¹, Pengfu Li²

¹Jiangsu Key Laboratory of Biodiversity and Biotechnology, Life Sciences College, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China;

²School of Life Sciences, Nanjing University, Nanjing 210093, China

Email: lijianhong@njnu.edu.cn

Abstract: To understand the effects of pesticides entering water bodies on the bloom-forming cyanobacteria, we investigated two comprehensive biological pesticides, 4.5% cypermethrin (GXJZ) and 25% diflubenzuron (MYN), affecting the physiological metabolism of a normal bloom cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* PCC 7806 at different levels in culture media. Results showed both GXJZ and MYN could increased *Microcysts* growth when their concentrations were less 1.0 mg.L⁻¹ and 0.1 mg.L⁻¹, respectively. However, higher concentrations of both pesticides inhibited *Microcystis* growth, the chlorophyll a fluorescence and nitrate reductase of *Microcystis* were enhanced. Furthermore, there were different functions on *Microcystis* between the two pesticides. MYN displayed a strong enhancing of nitrate reductase in *Microcystis*. Meanwhile, it obviously increased soluble proteins and membrane permeability of the cells. Different from MYN, higher concentration of GXJZ could reduced soluble proteins in the cells. This research suggested low concentration pesticides entering water body should be helpful for cyanobacterial bloom-occurring; there were different toxic mechanisms to *Microcystis* for the two pesticides in higher concentration.

Keywords: cypermethrin, diflubenzuron, *Microcystis*, pesticide, metabolism

农药氯氰菊酯和灭幼脲对铜绿微囊藻生理代谢的影响

吴丽¹, 李珊珊¹, 付鹿¹, 李建宏^{1*}, 王琳¹, 李敬伟¹, 李朋富²

¹南京师范大学生命科学学院, 江苏省生物技术和生物多样性重点实验室, 南京 210046;

²南京大学生命科学学院, 南京 210093

Email: lijianhong@njnu.edu.cn

摘要: 为探索生物源农药进入水体对蓝藻水华的影响, 本文选取了两种常用生物源农药: 4.5%高效氯氰菊酯(GXJZ)和25%灭幼脲(MYN), 研究这两种农药在不同浓度下对主要蓝藻水华种类铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa* PCC7806)生长和生理代谢的影响。研究结果显示, GXJZ和MYN在分别小于1.0 mg.L⁻¹和0.1 mg.L⁻¹的浓度下有促进藻类生长的作用; 两种农药高浓度时均可抑制微囊藻生长, 引起叶绿素相对荧光升高, 以及诱导硝酸还原酶活性提高。但两种农药也显示出不同作用: 灭幼脲有更强的促进硝酸还原酶活性的作用, 同时可显著提高可溶性蛋白和膜透性。而高浓度GXJZ却减少可溶性蛋白的生成。研究结果提示低浓度农药残留进入水体有助于蓝藻水华形成; 两种农药高浓度时对微囊藻毒害的机理不同。

关键词: 氯氰菊酯, 灭幼脲, 微囊藻, 农药, 生理代谢

1 引言

本随着现代农业的发展, 农药的使用量不断增加, 农药污染正成为环境污染中的突出问题^[3,5,8]。目前我国农药年产量达万吨, 居世界第二位。应用于环境

的农药可通过大气沉降或地表径流等方式进入水体, 使水体有机物水平增高, 对水体浮游植物的生长发育和生理代谢产生一定的影响^[14], 有关农药等有机污染物对藻类的毒理效应的研究已有大量报道^[20,25]。随着环保限制的提高, 许多高毒、高残留农药被禁止或限制使用, 低毒、高效、污染小的生物源农药得到了越

*通讯作者。项目资助: 国家重点基础研究发展计划 973 项目 (2008CB418004)

来越广泛的使用^[24]，但关于生物源农药对蓝藻生理代谢以及蓝藻水华形成研究报道较少。本文研究了两种常见广谱型生物源农药灭幼脲和高效氯氰菊酯对常见蓝藻水华种类铜绿微囊藻生长及生理代谢的影响，探索了残留农药在蓝藻水华形成中的生态作用。

2 材料与方法

2.1 实验材料

藻种：铜绿微囊藻 *Microcystis aeruginosa* PCC7806，源自法国巴斯德研究所，由法国马赛 CNRS-LCB 张承才教授惠赠。

农药：4.5% 乳油高效氯氰菊酯(GXJZ)，由山东省莱阳市星火农药有限公司生产；25% 灭幼脲(MYN)，由惠州市中迅化工有限公司生产。实验所用农药浓度以原农药为100%计。

2.2 试验方法

2.2.1 藻的预培养

无菌条件下将微囊藻接种于 BG-11 培养液中^[9]，26 °C，3 000 lx 光强，24 h 连续光照，培养至对数生长期作为实验材料。

2.2.2 藻生长的测定

用分光光度计测定藻液 650 nm 处光吸收值，作生长曲线；参照陈宇炜^[13]、张志良^[30]的方法分别测藻叶绿素 a 含量(Chl a)和类胡萝卜素含量(Car)。

2.2.3 叶绿素荧光强度测定

用流式细胞仪(FCM)对培养的藻细胞生理状态进行逐个检测与分析。实验检测每个微囊藻细胞中的 Chl a 荧光强度，其快速原位的检测结果反映了活体细胞的实时状况^[21]。取不同处理的藻液 2 ml，经 50 μm 筛绢过滤后移入样品管，用 FCM (Becton Dickinson, FACSCalibur) 测定叶绿素荧光。荧光收集在 FL3 处，激发波长为 488 nm，荧光检测波长为 FL3 > 630 nm，FL3 光电倍增管(FL3 PMT)为 624V，前射硅电二极管(FSC)为 E00，每个样品所检测的细胞数为 1.5 万个，每秒的细胞流量在 10³ 个左右。

2.2.4 藻细胞膜透性的测定

藻细胞膜透性的测定参照谢田等^[26]的紫外吸收法来测定藻细胞中非电解质的渗出率。

2.2.5 硝酸还原酶活性的测定

硝酸还原酶(NR)活性的测定参照李合生^[15]、唐洪

杰^[22]文献和方法。以每升藻液中 NR 催化的亚硝酸盐的含量来衡量硝酸还原酶的活性。

2.2.6 可溶性蛋白含量的测定

可溶性蛋白含量用考马斯亮蓝法测定^[16]。可溶性蛋白的含量以单位毫克 Chl a 所含有的蛋白质毫克数(mg·mg Chl a⁻¹) 表示。

3 结果与讨论

3.1 两种农药对铜绿微囊藻生长的影响

实验显示，低浓度高效氯氰菊酯对微囊藻的生长显示出一定的促进作用(图 1-A)，0.1 mg·L⁻¹ 的 GXJZ 促生长效果最好；高浓度 GXJZ 可抑制藻的生长。藻培养液中光合作用色素 Chl a 和类胡萝卜素的浓度变化，更显著地反映了不同浓度氯氰菊酯对藻浓度的影响(图 1-B)，GXJZ 浓度为 0.1 mg·L⁻¹ 时，培养 4 天藻液中 Chl a 和胡萝卜素的浓度最高。高于 10 mg·L⁻¹ 时，生长受到抑制，培养物中光合色素浓度低于对照。

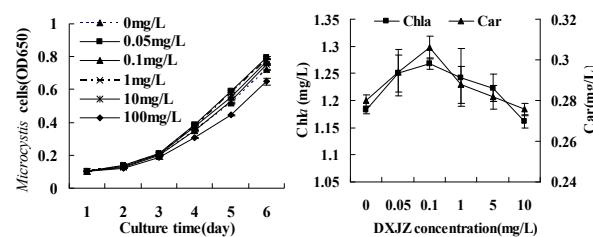


Figure 1 Effects of GXJZ (4.5% cypermethrin) on the growth of *M. aeruginosa*. (A: growth curve; B: Chl a and carotenoids)

图 1 GXJZ 对微囊藻生长的影响 (A:生长曲线；B:叶绿素和类胡萝卜素)

农药灭幼脲对微囊藻的作用的总体趋势与 GXJZ 相似，即低浓度有促进作用，高浓度有抑制作用。但与 GXJZ 相比，微囊藻对 MYN 更敏感，1.0 mg·L⁻¹ 时即呈现十分显著的生长抑制作用。单位培养体积中光合色素浓度的变化，更显著地反映出了这一结果。

3.2 两种农药对微囊藻激发荧光的影响

用 FCM 测定培养 4 天的藻液单个藻细胞内 Chl a 荧光强度。检测到藻细胞 Chl a 的荧光强度分布如图 3。从图中结果可见(下)，在高浓度 MYN 的作用下，低荧光强度的荧光点显著增加，显示了死亡细胞的数量的增加。而 GXJZ 作用 4 天内(上)，死亡细胞的数量并没有显著的变化。这一结果与生长曲线相吻合。

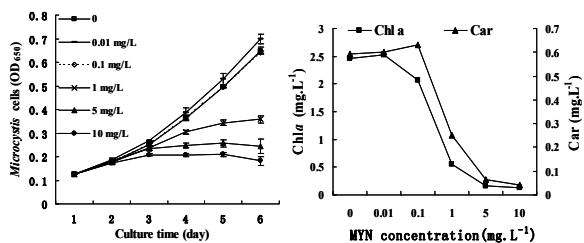


Figure 2 Effects of MYN (25% diflubenzuron) on the growth of *M. aeruginosa*. (A:growth curve;B:Chl a and carotenoids)

图 2 MYN 对微囊藻生长影响(A:生长曲线;B:叶绿素和类胡萝卜素)

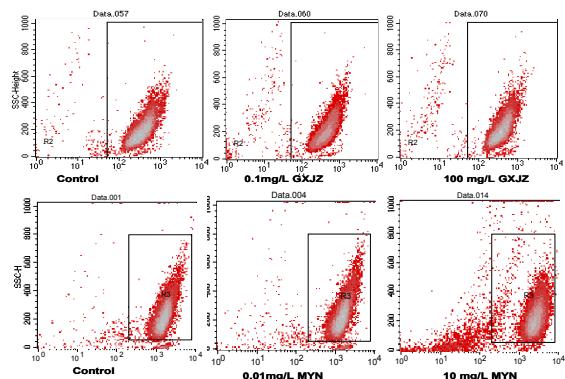


Figure 3 Effects of different concentrations of GXJZ (top) and MYN (bottom) on Chl a fluorescent distribution of *M. aeruginosa*.

图3 不同浓度 GXJZ(上)和 MYN(下)作用下微囊藻细胞荧光的分布

图 3 中门中(黑框)包括的高荧光细胞是生理状态良好的细胞，这些细胞群的相对荧光强度与农药浓度的关系示于图 4 中。两种农药在高于 1.0 mg L^{-1} 浓度培

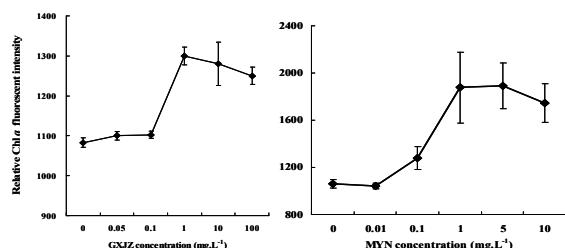


Figure 4 Effects of different concentrations of GXJZ (left) and MYN (right) on Chl a fluorescent intensities of *M. aeruginosa*.

图 4 不同浓度 GXJZ(左)和 MYN(右)对微囊藻叶绿素 a 荧光的影响

养下均呈现 Chl a 荧光升高现象。导致 Chl a 荧光增高的原因有两种可能：一是由于细胞内叶绿素浓度增高导致荧光增强^[6,11]。但从前文的结果来看，虽然两种农

药低浓度作用下藻培养物叶绿素含量略有提高，但在高浓度时藻浓度显著下降。因此，高浓度时单个藻细胞的荧光升高不是细胞内叶绿素浓度升高所致；另一种可能是由于光合色素颗粒解聚，不能通过共振进行传递的能量以形成荧光的形式逃逸。显然，高浓度农药使单个细胞的叶绿素荧光增强应该是后一种原因所致。比较两种农药的作用效果，MYN 对叶绿素荧光改变的作用更大，大于 1.0 mg L^{-1} 浓度时荧光强度提高 80% 左右(GXJZ 最高仅提高 30%)，这与上文 MYN 对叶绿素影响的作用结果相吻合。

3.3 两种农药对微囊藻硝酸还原酶活性的影响

图 5 显示了在两种农药作用下微囊藻 NR 活性的变化，在低浓度的范围内，硝酸还原酶的活性变化不大，但两种农药的作用不同：微囊藻的 NR 活性随 GXJZ 浓度提高而略有增加，而 MYN 却使 NR 活性略有降低。在高浓度的情况下，两种农药均有促进硝酸还原酶活性的趋势。特别是 MYN，大于 0.1 mg L^{-1} 时单位毫克叶绿素硝酸还原酶的活性大大提高，一方面源于单位培养体积中叶绿素水平的大大下降，另一方面，硝酸还原酶是一种诱导酶，与氮代谢密切相关，氮代谢的异常反过来导致叶绿素合成受阻。两种农药对其的促进作用，说明了它们对微囊藻氮代谢过程有一定的影响。

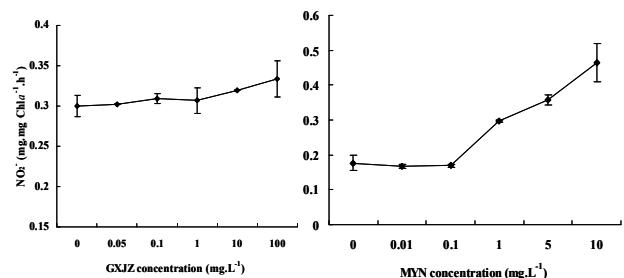


Figure 5 Effects of different concentrations of GXJZ (left) and MYN (right) on the nitrate reductase activity of *M. aeruginosa*.

图 5 不同浓度 GXJZ(左)和 MYN (右)对微囊藻硝酸还原酶的影响

3.4 两种农药对微囊藻可溶性蛋白含量的影响

两种农药对培养第 4 天后微囊藻可溶性蛋白的影响见图 6。低浓度 GXJZ 使微囊藻可溶性蛋白含量增加，当农药浓度低于 1.0 mg L^{-1} 时，可溶性蛋白含量与对照相比有所提高，说明低浓度 GXJZ 促进了微囊藻一些蛋白质的合成，但更高的 GXJZ 浓度又使可溶性蛋白含量下降；对 MYN 而言，小于 0.1 mg L^{-1} 时对可

溶性蛋白有微小的促进，与促生长的作用相吻合；但当大于 0.1 mg.L^{-1} 时，微囊藻已受到毒害，生长受到抑制。此时的可溶性蛋白的提高应该是来自于死亡细胞非可溶蛋白的分解。

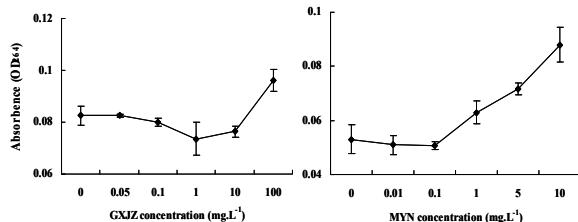


Figure 6 Effects of different concentrations of GXJZ (left) and MYN (right) on the soluble proteins of *M. aeruginosa*.

图6 不同浓度 GXJZ(左)和 MYN(右)对微囊藻可溶性蛋白的影响

3.5 两种农药对微囊藻细胞膜透性的影响

图7所示为在不同浓度的两种农药作用下培养4天后微囊藻细胞膜透性的变化。结果显示在促进生长的低浓度下，细胞膜的透性均略有降低，但在抑制生长的高浓度下，膜透性却显著增加。细胞膜透性的变化指示了细胞膜受损的程度。藻细胞膜受到破坏时，其通透性会增大，使胞内非电解质的渗出率增加，培养液中有机物含量急剧升高^[26]。细胞膜透性变化的结果，与上述GXJZ和MYN对微囊藻生长的毒害浓度一致。

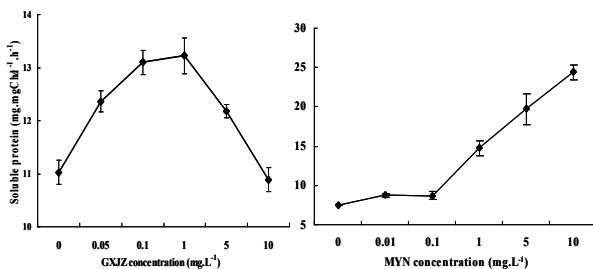


Figure7 Effects of different concentrations of GXJZ (left) and MYN (right) on the cell membrane permeability of *M. aeruginosa*.

图7 不同浓度 GXJZ(左)和 MYN(右)对微囊藻细胞膜透性的影响

关于农药对藻类的影响，已有很多人从农药的毒理效应的角度开展了研究^[19,28]。关于低浓度农药残留对藻类的影响也正引起广泛的重视^[18]，低浓度农药对藻类生长的促进作用已在很多种类中被报道。低浓度丁草胺^[12]、有机磷农药^[17]、氯氰菊酯^[29]分别能促进杜氏盐藻、微囊藻、锥状斯氏藻生长。有毒农药在较低浓度下出现这种刺激效应，被称之为“毒物的兴奋效

应”^[10]。本研究的结果显示了两种农药在低浓度下也对微囊藻生长具有促进作用，这种生长刺激效应与可溶性蛋白的合成、细胞膜透性的维持相一致，说明了刺激作用与这些细胞生理的代谢过程相关。

高浓度农药对藻类有多种毒害效应^[2]，本研究的结果显示，两种农药对蓝藻的毒害效应有着不同的作用机理，特别是灭幼脲，表现出对氮代谢过程和叶绿素的合成有显著的抑制效应，其详细的细胞学机制有待进一步探索。

农药的残留造成地表水污染已是普遍存在的问题，已有大量报道显示农药浓度已超过 $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ ，大雨过后有些河流农药含量甚至达到 $700 \mu\text{g.L}^{-1}$ ^[1,4,7]。万译文测得北京官厅水库9个采样点水样中18种有机氯农药残留水平为 $10.06 \sim 87.37 \mu\text{g.L}^{-1}$ ^[23]，徐炜对河水和水厂原水进行分析，测出了乐果、甲基对硫磷含量分别在 $11 \sim 245 \mu\text{g.L}^{-1}$ 和 $49 \sim 133 \mu\text{g.L}^{-1}$ ^[27]。随着人们环保意识的提高，生物源农药以其高效、低毒、污染小的优点，将逐步取代有机氯及部分高残留高风险的有机磷农药，成为农药市场的主力军。而且生物源农药使用时间多在春夏为主，正是水华爆发时期，因此研究不同浓度，尤其是较低浓度生物源农药对藻类生长的影响对水华爆发的影响有一定实际意义。本研究所设计的农药浓度，兼顾了低于毒性效应浓度的低浓度和具有毒性效应的相对高浓度。按原农药氯氰聚酯和灭幼脲百分比计算，两种农药的实际浓度分别在 $0 \sim 4.5 \text{ mg.L}^{-1}$ 和 $0 \sim 2.5 \text{ mg.L}^{-1}$ 范围内，低浓度促进范围

(GXJZ 低于 1 mg.L^{-1} , MYN 低于 0.1 mg.L^{-1}) 其中的农药有效成分分别小于 $45 \mu\text{g.L}^{-1}$ 和 $25 \mu\text{g.L}^{-1}$ ，与实际环境中的残留水平相近。本研究的结果提示，环境中低浓度的氯氰菊酯和灭幼脲对蓝藻有直接的生长促进作用，农药残留进入水体有利于蓝藻水华的暴发。

References (参考文献)

- [1] Carder JP, Hoagland KD. Combined effects of alachlor and atrazine on benthic algal communities in artificial streams[J]. *Environ Toxicol Chem* 1998, 17(7): 1415–1420.
- [2] Debenest T, Silvestre J, Coste M, Pinelli E. Effects of pesticides on freshwater diatoms[J]. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 2010, 203:87-103.
- [3] Devault D, Merlina G, Lim P, Probst J-L, Pinelli E. Multi-residues analysis of pre-emergence herbicides in fluvial sediments: Application to the mid-Garonne River[J]. *J Environ Monit* 2007, 9:1009–1017.
- [4] Ferenczi J, Ambrus A, Wauchope RD, Sumner HR. Persistence and runoff losses of 3 herbicides and chlorpyrifos from a corn field in the Lake Balaton watershed of Hungary[J]. *J Environ Sci Health B* 2002, 37(3):211–224.

- [5] Gilliom RJ. Pesticides in U.S. streams and groundwater[J]. *Environ Sci Technol* 2007,41(10):3407–3413.
- [6] Graziano LM,Geider RJ,Li WK, et al. Nitrogen limitation of North Atlantic phytoplankton:Analysis of physiological condition in nutrient enrichment experiments[J]. *Aquat Microb Ecol* 1996,11:53-64.
- [7] Schulz R.Rainfall-induced sediment and pesticide input from orchards into the Lourens River, Western Cape, South Africa: Importance of a single event[J]. *Water Res* 2001,35(8):1869–1876.
- [8] Sprague LA, Nowell LH.Comparison of pesticide concentrations in streams at low flow in six metropolitan areas of the United States[J]. *Environ Toxicol Chem* 2008,27:288–298.
- [9] Stanier RY, Kunisawa MM, Cohen-Bazre G.. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales) [J]. *Bacteriological Reviews*, 1971, 35(2): 171-205.
- [10] Stebbing ARD. Hormesis—the stimulation of growth by low levels of inhibitors[J]. *Science of the Total Environment* 1982, 22(3):213-234.
- [11] Veldhuis MJW, Kraay GW. Application of flow cytometry in marine phytoplankton research:Current applications and future perspectives[J]. *Sc Mar* 2004,64(2):121-134.
- [12] CHEN Chuahong, LIU Zhenqian, FU Feng, et al. Effect of acetanilide herbicides butachlor on Physiological and Biochemical of *Microalgae Dunaliella salina* [J]. *Ecological Science* .2007, 26 (1): 18-21.
陈传红,刘振乾,傅凤,等.丁草胺对杜氏盐藻生理生化的影响[J].生态科学.2007, 26 (1): 18-21.
- [13] CHEN Yuwei,GAO xiyun. Comparison of two methods for phytoplankton Chlorophyll-a concentration measurement[J]. *J Lake Sci*. 2000, 12(2):185-188.
陈宇炜,高锡云.浮游植物叶绿素a含量测定方法的比较测定[J].湖泊科学.2000, 12(2):185-188.
- [14] HUANG Yuyao,GAO Yurong, et al. Apreliminary study on the effects of monoformamidine insecticide on model grassy pond exosystem [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*. 1994, 14(4): 466-474.
黄玉瑶,高玉荣,等.甲单脒农药对草型塘模型生态系统的影响初步研究[J].环境科学学报.1994,14(4):466-474.
- [15] LI Hesheng. Experimental principle and technology of plant physiology and biochemistry[M].Beijing: High Education Press. 2000, 167-169.
李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社. 2000, 167-169.
- [16] LI Yaode,Ye Jiyu. The production of thin--membrane oxygen electrode and the measure of breath and photosynthetic control [J].*Plant Physiology Communications*,1980,16(1):35-40.
李跃德,叶济宇.薄膜氧电极的制作与呼吸或光合控制的测定[J].植物生理学通讯,1980,16(1):35-40.
- [17] SHEN Hong,LIN Jun, ZHENG Zhenhua. Kinetic studies on the effects of organophosphorus pesticides on the growth of *microcystis* A.and ITS uptake to phosphorus[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*.2004,28 (2):174-179.
沈宏,林俊,郑振华.有机磷农药对铜绿微囊藻生长及摄磷效应的动力学研究[J].水生生物学报.2004,28 (2):174-179.
- [18] SHEN Hong ,ZHOU Peijiang. Advance in the studieson effect of environmental organic pollutants on the algae growth[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*.2002,26(5): 529-535.
沈宏,周培疆.环境有机污染物对藻类生长作用的研究进展[J].水生生物学报.2002,26(5): 529-535.
- [19] SHEN Jianrong,LU Zhengrong,LU Yitong,WANG XiuHong. The study progress of toxicity of herbicides on nitrogen-fixing cyanobacteria. [J].Word Pesticides.2004,26(6):27-32.
- [20] RU Shaoguo, LI Yongqi, JING Yongchang . Toxicity of ten organophosphorus pesticides to *platymonas* [J]. *Journal of Environmental Sciences*.1996,16(3): 337-341.
汝少国,李永祺,敬勇畅.十种有机磷农药对扁藻的毒性[J].环境科学学报.1996,16(3): 337-341.
- [21] TAN Xiao,KONG Fanxiang,CAO Hansheng. Influences of temperatures on the competition between two species of algae assayed by flow cytometry [J]. *J Lake Sci*. 2006, 18(4): 419-424.
谭啸,孔繁翔,曹焕生.利用流式细胞仪研究温度对两种藻竞争的影响[J].湖泊科学.2006, 18(4): 419-424.
- [22] TANG HongJie, WANG XiuLin, ZHU ChenJian, et al. Comparison studies on two testing methods of nitrate reductase activity in marine microalgae [J]. *Periodical of Ocean Univercity of China*. 2006, 36(6):981-984.
唐洪杰,王修林,祝陈坚,等.两种海洋微藻硝酸还原酶活性测定方法的比较研究.中国海洋大学学报[J].2006, 36(6):981-984.
- [23] WAN Yiwen ,KANG Tianfang, ZHOU Zhong-liang, et al. Distribution and sources of organochlorine pesticides in Beijing Guanting reservoir[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*.2009, 25(1):53-56, 68.
万译文,康天放,周忠良.北京官厅水库中有机氯类农药的分布和来源[J].生态与农村环境学报.2009, 25(1):53-56, 68.
- [24] WANG Hong,HU Wenjin,WANG Qinhuan. Research & development of biogenic pesticides [J]. *Journal of Huanggang Normal University*.2008,28(6):17-19.
王虹,胡文进,王清环.生物源农药及其研发展望[J].黄冈师范学院学报.2008,28(6):17-19.
- [25] XIE Rong ,TANG Xuexi LI Yongqi.Study on joint toxicity of heavy metal and organophosphorus pesticide to marine microalgae[J]. *Marine Environmental Science*.1999,18(2):16-20.
谢荣,唐学玺,李永祺.有机磷农药和重金属对海洋微藻的联合毒性研究[J].海洋环境科学.1999,18(2):16-20.
- [26] XIE Tian,XU Zhongbiao. UV absorption method of measuring cell permeability. [J]. *Plant Physiology Communications*.1986,1: 45- 46.
谢田,徐中标.紫外吸收方法测定细胞膜的通透性[J].植物生理学通讯.1986,1: 45- 46.
- [27] XU Wei. Determination Of residual amount of 8 kinds of pesticide in environmental water by high performance liquidChromatography[J]. *Journal of Environment and Health* .2000,17(6): 362-363.
徐炜.高效液相色谱法测定水体中8种农药残留量[J].环境与健康杂志.2000,17(6): 362-363.
- [28] XU Xiaohua, XIAO Ming ,PAN Huiyun, et al. Effects of atrazine on growth of *microcystis aeruginosa* and *scenedesmus quadricauda* [J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*.2008, 24 (1):72-76.
徐小花,肖铭,潘慧云,等.阿特拉津对铜绿微囊藻和四尾栅藻生长的影响[J].生态与农村环境学报.2008, 24 (1):72-76.
- [29] YUE Wenjie ,WANG Zhaohui . Toxic effects of cypermethrin on *Scrippsiea trochoidea*[J]. *Ecological Science*.2009,28(2): 123-127.
岳文洁,王朝晖. 氯氰菊酯对锥状斯氏藻的毒性效应[J].生态科学.2009,28(2): 123-127.
- [30] ZHANG Zhiliang. Plant physiology lab guide[M]. Beijing: HighEducationPress,1990.
张志良.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,1990.