

水、土环境中的锑(Sb)污染及其对植物和微生物的生态毒理效应研究进展*

张道勇¹ 潘响亮^{2**} 穆桂金²

(¹中国科学院地球化学研究所环境地球化学国家重点实验室 贵阳 550002)

(²中国科学院新疆生态与地理研究所, 中国科学院干旱区生物地理与生物资源重点实验室 乌鲁木齐 830011)

摘要 由于过去几十年锑(Sb)矿山开发和各行各业对Sb的广泛使用, 水土环境中的Sb污染日益严重. 简要回顾十几年来土壤、水体中Sb的污染途径、污染程度、环境行为、在植物和微生物中的积累特征及其生态毒理效应等方面的研究进展. 植物对Sb的吸收和积累量随植物种属和污染场所差别很大, Sb从植物地下组织到地上组织的转移系数也随植物种属差别很大. Sb在自然水环境中多以Sb(III)和Sb(V)两种氧化态存在并受水环境的氧化还原条件影响. Sb在水环境微生物中积累的报道几乎全部是关于藻类的, 藻类吸收Sb的机理及其在细胞中的分布特征还不是很清楚. 关于Sb对植物和微生物的生态毒理效应也知之甚少. 目前对Sb在环境的行为和在大气圈、水圈、土壤圈及各圈层界面之间的迁移转化(尤其是全球尺度的迁移)、Sb对植物和微生物的生态毒理效应的分子生物学机制等诸多方面都有待深入研究. 表1 参36

关键词 锑污染; 环境行为; 生物累积; 生态毒理效应

CLC X17

Antimony Pollution in Water and Soil and Its Ecotoxicological Effects on Plants and Microorganisms*

ZHANG Daoyong¹, PAN Xiangliang^{2**} & MU Guijin²

(¹State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China)

(²Key Laboratory of Biogeography and Bioresource in Arid Land, Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China)

Abstract The ever-increasing antimony (Sb) pollution has drawn more and more attention from scientists and governments. Sb pollution in water and soil and its ecotoxicological effects on plants and microorganisms are reviewed in this paper. Phytoaccumulation of Sb varies greatly with plant species and contamination sites. The translocation coefficients of Sb from plant roots to above-ground biomass also varies greatly with plant species. Chemical forms of Sb exist mainly at +3 and +5 in aquatic environment and are affected by the redox conditions. Bioaccumulation of Sb in aquatic environment focuses on the algae. The mechanisms involved in adsorption and partition of Sb inside cell are unclear. So far little information was available on environmental behavior of Sb and its toxicity to higher plants and microbes. The transport and transformation of Sb in pedosphere, hydrosphere and atmosphere and among them, and the molecular mechanisms of toxicity of Sb to higher plants and microorganisms need further study. Tab 1, Ref 36

Keywords antimony pollution; bioaccumulation; ecotoxicological effect; environmental behavior

CLC X17

锑(Sb)位于元素周期表中第5周期VA族, 原子序数和原子量分别为51和121.75, 是一种非生命必需的元素. 很低浓度的Sb就存在潜在的毒性^[1]. 其毒理性质被认为与砷相似, 单质Sb比其化合物毒性大, 无机锑比有机锑毒性强, Sb(III)化合物毒性是Sb(V)化合物的10倍多^[1]. Sb因为其致癌性等各种危害而被世界卫生组织(WHO)和多个国家列为优先控制的污染物^[2].

过去数十年, Sb被广泛应用于半导体行业、制造PET(聚乙烯苯二酸盐)的催化剂、刹车片、弹药、阻燃剂、医药

等行业^[1, 3], 这导致了Sb的市场需求量也非常巨大. 我国是世界上最主要的产Sb国, 约占世界Sb产量的87%. 随着Sb在各行各业的大量使用及Sb矿的大规模开采, 大量Sb进入到大气、地表水和地下水和土壤中, 造成了地表环境日益严重的Sb污染^[1, 3-5]. 最近在偏远的沼泽地、北极冰心中也检测到了Sb^[6-8], 表明工业革命后Sb在各行各业的大量使用导致了环境中Sb的急剧增加, 而且Sb已经成为一种全球性的新兴污染物^[1, 8], 这引起了政府和科学家越来越多的关注和重视.

1 土壤Sb污染及其环境行为

Sb及其化合物是地壳中的天然成分. Sb在地壳中的丰度约为 0.3 $\mu\text{g kg}^{-1}$, 在上下陆壳中丰度接近^[9]. 土壤中Sb的浓度要比其母岩高, 其土壤背景值为0.3~8.6 mg kg^{-1} , 通常低于 1 mg kg^{-1} ^[10]. 世界土壤中Sb的平均含量约为1 mg kg^{-1} , 美国土

收稿日期: 2010-03-01 接受日期: 2010-03-30

*中国科学院知识创新工程重要方向性项目(No. KZCX2-YW-335)和中国科学院“百人计划”项目资助 Supported by the Knowledge Innovation Program of Chinese Academy of Sciences (No. KZCX2-YW-335) and the Program of 100 Distinguished Young Scientists of the Chinese Academy of Sciences

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: xiangliangpan@163.com)

壤中Sb的天然背景值为1~8.8 mg kg⁻¹ [1]. 我国土壤中Sb的天然浓度范围为0.38~2.98 mg kg⁻¹ [10]. Sb的自然污染途径主要有火山爆发、岩石风化等. 相比于自然途径, 人类活动(如燃烧化石燃料、冶炼金属和焚烧废物和污泥等途径)造成的Sb污染更为突出. 一些铋矿区和射击训练场所土壤Sb污染异常严重. 湖南锡矿山的表层土壤中的Sb高达5 045 mg kg⁻¹ [12]. 在Tuscany的Sb矿区的土壤中Sb高达15 g kg⁻¹ [13]. 由于Sb是制作子弹的主要原料之一, 射击场的土壤也同样遭受Sb的严重污染, 如Johnson等人发现瑞士射击场的表层土壤的Sb为13.8 g kg⁻¹ [10].

从不同污染源释放的大部分Sb最后大多被土壤中的铝、铁、锰氧化物吸附. 在土壤中, 特别是在氧化和碱性条件下溶解性的铋酸盐可能以Sb(V)形式存在, 并被土壤中某些成分吸附 [14]. 如赤铁矿等铁氧化物、锰氧化物和粘土能有效吸附土壤中溶解态的Sb(V). Sb(III)可以快速地、不可逆地吸附到土壤矿物质(如碱性土壤中的碳酸盐)或土壤有机颗粒上 [15]. 很多研究认为表生环境中的Sb相对稳定不易迁移, 尤其是在氧化性的土壤和(或者)Sb含量较低的土壤 [3, 5, 16~17]. 然而, 也有研究者表明Sb具有中等程度的迁移性, 但并没有提供关于土壤中Sb的有效性的数据 [18].

2 Sb在植物中的积累及毒理效应

植物对Sb的吸收和积累量随植物种属和污染场所差别很大 [13, 16, 19~20]. Hammel等人报道在10种蔬菜、谷物和其它草本植物的叶、根中积累的Sb的含量很低, 如在玉米的茎叶中Sb的含量为0.06~0.35 mg kg⁻¹ DW [16]. Pratas等人的研究表明生长于葡萄牙废弃矿山的16种植物中Sb的含量在数 μg kg⁻¹ DW 到数 mg kg⁻¹ DW 范围内 [20]. 在一些水生植物的地下组织中Sb可以积累到100~1 300 mg kg⁻¹ DW, 在地上组织部分的积累量为15~19 mg kg⁻¹ DW [19]. Baroni等人报道在Tuscany南部的一个废弃Sb矿的尾矿池土壤中Sb含量为9 000 mg kg⁻¹, 在其中生长的 *Achillea ageratum* 的基生叶中Sb含量达1 367 mg kg⁻¹ [13]. Dominguez等人报道了Sb在植物中转移系数低 [21]. 西班牙南部的Guadiamar山谷Sb尾矿渣覆盖的土壤中Sb浓度为4.5~37.7 mg kg⁻¹, 而其中生长的木本植物的叶子中的Sb含量为0.03~0.07 mg kg⁻¹. 法国Brouzils附近的富Sb矿床中土壤的

Sb浓度为105 mg kg⁻¹, 生长于其中的橡树枝条中的Sb含量为0.19~0.23 mg kg⁻¹ [22].

Sb从植物地下组织到地上组织的转移系数也随植物种属差别很大, 有时甚至在同一种植物中也有很大差别. Hozhina等人的研究发现大多数Sb积累在水生植物 (*Typha latifolia*, *Scirpus sylvaticus* 和 *Phragmites australis*) 的根部, 而且难以被转移到地上部分, 也就是说具有很低的Sb转移系数 [19]. 例如, 在香蒲 (*Typha latifolia*) 的地下部分中Sb的含量可以达到1 300 μg g⁻¹ DW, 而在地上部分仅为15 μg g⁻¹ DW. Baroni等人的研究表明即使是同一种植物, Sb的转移系数也差别很大 [13]. 如Sb从 *Plantago lanceolata* 根部到叶子的转移系数为0.21~2.76.

目前关于Sb对植物毒性的研究还非常少. 表1列出了文献中报道的土壤中Sb对植物的最大半数效应浓度 (EC₅₀) [5]. 从表中可以看出, 与其它重金属相比, 植物对土壤中的总Sb有很高的耐受性, 比土壤溶液中的Sb的最大半数效应浓度 (EC₅₀) 高出2个数量级, 可能是因为土壤中的Sb大部分以植物不易利用的形态存在. He和Yang发现水稻种子萌发、抽芽和根生长受Sb(III)与Sb(V)的抑制, 但是Sb(III)与Sb(V)对水稻根和茎叶生长的毒性没有明显的差异 [25].

除对以上这些植物生长参数有影响外, 还有少数研究报道了Sb对植物酶活性的影响. He和Yang发现Sb(III)抑制水稻中的α-淀粉酶活性: 低浓度(5~50 mg L⁻¹)的Sb(V)增加了α-淀粉酶活性, 而高浓度(100~1000 mg L⁻¹)的Sb(V)抑制了α-淀粉酶活性 [25].

3 水环境的Sb污染及其环境行为

水环境中溶解性Sb的天然背景值小于1 μg L⁻¹. Filella等人对自1961年到2001年的60余篇相关文献进行了回顾总结, 发现在淡水环境中的Sb浓度通常在数 ng L⁻¹到数 μg L⁻¹ [3]. 淡水中Sb的浓度取决于淡水水体的地理位置、物理化学条件及距离污染源的远近等 [26]. 海水中Sb的天然背景值约为200 ng L⁻¹. Sb在海水中的化学性质并不活跃, 其浓度可以反映海岸环境的地球化学特征. 在地下水中Sb的浓度为数 μg L⁻¹ [27].

除在某些温泉及地热水中Sb的浓度较高(可达500 μg L⁻¹以上)外, Sb在天然水体中一般不可能以高浓度存在, 但

表1 文献报道的土壤中Sb对植物的最大半数效应浓度 (EC₅₀) [5]

Table 1 The half maximal effective concentration (EC₅₀) values for Sb toxicity on plants in literature [5]

植物名称 Plant species	植物参数 Parameter	土壤中Sb化合物 Sb compounds in soil	EC ₅₀ /soil mg kg ⁻¹ soil	EC ₅₀ /soil mg L ⁻¹ soil solution	文献 Reference
<i>Chlorococcum infusionum</i>	叶绿素浓度 Chlorophyll content	K(SbO)C ₄ H ₄ O ₆	>1000		[16]
<i>Chlorococcum infusionum</i>	叶绿素浓度 Chlorophyll content	Sb ₂ S ₃	125->1000		[16]
<i>Chlorococcum infusionum</i>	叶绿素浓度 Chlorophyll content	Sb ₂ S ₅	>1000		[16]
<i>Hordeum vulgare</i> cv. Mauritia	根生长 Root growth	Sb ₂ O ₃	6819	39	[23]
<i>Lactuca sativa</i> cv. Pontiac	茎叶生物量 Shoot biomass		7549	41.4	[23]
<i>Trifolium pretense</i> cv. Milvus	根生长 Root growth	KSb(OH) ₆	1247		[24]
<i>Trifolium pretense</i> cv. Milvus	茎叶生物量 Shoot biomass	KSb(OH) ₆	1111	10.6	[24]
<i>Zea mays</i> cv. Magister	根生长 Root growth	KSb(OH) ₆	829		[24]
<i>Zea mays</i> cv. Magister	茎叶生物量 Shoot biomass	KSb(OH) ₆	1178		[24]
<i>Brassica juncea</i>	根生长 Root growth	KSb(OH) ₆	>2463		[24]
<i>Helianthus annuus</i> cv. Iregi	根生长 Root growth	KSb(OH) ₆	829		[24]
<i>Helianthus annuus</i> cv. Iregi	茎叶生物量 Shoot biomass	KSb(OH) ₆	1122	10.1	[24]
<i>Triticum aestivum</i> cv. Galaxie	根生长 Root growth	KSb(OH) ₆	631		[24]

在人类活动影响下Sb的浓度能够达到 $100 \mu\text{g L}^{-1}$ 左右,约为天然背景值的100倍^[3]。一些在富集Sb的地球化学条件下或可能被污染的地下水中Sb含量可达数 $\mu\text{g L}^{-1}$ 。进入地下水后Sb能与水中腐植酸形成络合物^[28]。在一些受酸性矿山废水污染的水体中,Sb的浓度可以比这些值高出很多。湖南锡矿山的矿山废水、河水和污染井水中的Sb含量分别为1.33~21.79、0.063~0.037和24.02~42.03 mg L^{-1} ^[25]。法国某砷矿山附近河流中的Sb浓度达249~385 $\mu\text{g L}^{-1}$ ^[11]。在玻璃或金属处理企业废水中往往含有Sb,而在生活废水中几乎不含Sb。

最近的研究报道发现由于聚乙烯苯二酸盐材料(PET)的浸出,桶装水中也检测到了Sb污染^[29]。在调查分析了28个国家132个品牌的桶装水后,发现日本有2个品牌的桶装水中Sb含量超过饮用水标准(2 $\mu\text{g L}^{-1}$)。桶装水中的Sb含量会随存放时间而增多,原因是用作制作PET时使用了 Sb_2O_3 作为催化剂,这些 Sb_2O_3 会不断溶解释放到水中^[29]。

Sb在自然水环境中多以Sb(III)和Sb(V)两种氧化态存在并受水环境的氧化还原条件影响。通常根据热力学计算,Sb(III)和Sb(V)应该分别是还原和氧化环境中Sb的主要化学形式,但一些研究者报道了Sb在环境中的价态与热力学预测结果相反的情况^[3],即在氧化性水体中发现了Sb(III),而在还原性水体中发现了Sb(V)^[5]。甲基化锑也在多处水环境中被发现,而且呈现越接近水体表面甲基化锑浓度越高的趋势。Andrewes等人发现Sb可以抑制As的生物甲基化,而As却能够加强Sb的生物甲基化过程。 Sb_2O_5 几乎不溶于水,但可在水溶液中产生阴性锑酸盐离子^[30]。

4 Sb在水环境微生物中的积累及毒理效应

Sb在水环境微生物中的积累的报道几乎全部是关于藻类的。Sb在微藻中积累的量很低,富集因子也相对较低^[31]。淡水和海水微藻中的Sb浓度通常在 ng g^{-1} DW水平,也有少数关于微藻中更高的Sb浓度的报道^[32]。一些研究报道了在高浓度Sb污染水体中,藻类对Sb具有生物积累作用^[33-34]。如Maeda等人的研究发现淡水藻类*Chlorella vulgaris*积累的Sb浓度为 12mg g^{-1} ,而且*Chlorella vulgaris*能将吸收的Sb(III)转化为毒性更低的Sb(V),这可能是*Chlorella vulgaris*保护自身细胞安全的解毒机制^[33];他们还发现Sb在小球藻细胞中与相对分子质量 4×10^4 的蛋白质分子结合^[34]。目前,藻类吸收Sb的机理及其在藻类细胞中的分布特征还不是很清楚。

Sb对环境微生物的毒理效应的研究也是非常有限。Nam等人^[35]的研究表明,酒石酸锑钾对绿藻*Pseudokirchneriella subcapitata*的72 h EC_{50} 为 206mg L^{-1} 。Zhang等人的研究表明Sb对蓝藻*Synechocystis* sp.的光系统II具有毒害作用,明显地抑制光合放氧和光系统II中电子传递和能量转移等^[36]。

5 研究展望

尽管环境中的Sb污染日益严重,并且引起了越来越多的科学家的关注,但是与铅、镉、汞等其它有毒重金属相比,对Sb在环境的行为和Sb对植物和微生物的生态毒理效应还知之甚少。Sb在大气圈、水圈、土壤圈及各圈层界面之间的迁移转化(尤其是全球尺度的迁移)、Sb对植物和微生物的生态

毒理效应的分子生物学机制等诸多方面都有待深入研究。

References

- Smichowski P. Antimony in the environment as a global pollutant: A review on analytical methodologies for its determination in atmospheric aerosols. *Talanta*, 2008, **75**: 2~14
- IARC. Some organic solvents, resin monomers and related compounds, pigments and occupational exposures in paint manufacture and painting. Lyon, International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (Vol 47), 1989. 291~305
- Filella M, Belzile N, Chen YW. Antimony in the environment: a review focused on natural waters I. Occurrence. *Earth Sci Rev*, 2002, **57**: 125~176.
- Filella M, Belzile N, Chen YW. Antimony in the environment: a review focused on natural waters II. Relevant solution chemistry. *Earth Sci Rev*, 2002, **59**: 265~285
- Tschan M, Robinson BH, Schulin R. Antimony in the soil-plant system - A review. *Environ Chem*, 2009, **6**: 106~115
- Krachler M, Zheng J, Koerner R, Zdanowicz C, Fisher D, Shoty W. Increasing atmospheric antimony contamination in the northern hemisphere: Snow, ice and evidence from Devon Island, Arctic Canada. *J Environ Monit*, 2005, **7**: 1169~1176
- Shoty W, Chen B, Krachler M. Lithogenic, oceanic and anthropogenic sources of atmospheric Sb to a maritime blanket bog, Myrarnar, Faroe Islands. *J Environ Monit*, 2005, **7**: 1148~1154
- Maher WA. Antimony in the environment - The new global puzzle. *Environ Chem*, 2009, **6**: 93~94
- Gómez D, Giné MF, Bellato ACS, Smichowski P. Antimony: A traffic-related element in the atmosphere of Buenos Aires, Argentina. *J Environ Monit*, 2005, **7**: 1162~1168
- Johnson CA, Moench H, Wersin P, Kugler P, Wenger C. Solubility of antimony and other elements in samples taken from shooting ranges. *J Environ Qual*, 2005, **34**: 248~254
- He MC (何孟常), Wan HY (万红艳). Distribution, speciation, toxicity and bioavailability of antimony in the environment. *Progr Chem* (化学进展), 2004, **16** (1): 131~135
- He MC, Ji HB, Zhao CY, Xie J, Wu XM, Li ZF. Preliminary studies of heavy metal pollution in soil and plant near antimony mine area. *J Beijing Norm Univ Nat Sci*, 2002, **38**: 417~420
- Baroni F, Boscagli A, Protano G, Riccobano F. Antimony accumulation in *Achillea ageratum*, *Lantago lanceolata* and *Silene vulgaris* growing in an old Sb-mining area. *Environ Poll*, 2000, **109**: 347~352
- Adriano DC. Trace Elements in Terrestrial Environments. 2nd ed. New York, Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2001
- Lintschinger J, Michalke B, Schulte-Hustede S, Schramel P. Studies on speciation of antimony in soil contaminated by industrial activity. *Int J Environ Anal Chem*, 1998, **72**: 11~25
- Hammel W, Debus R, Steubing L. Mobility of antimony in soil and its availability to plants. *Chemosphere*, 2000, **41**: 1791~1798
- Flynn HC, Meharg AA, Bowyer PK, Paton GI. Antimony bioavailability

- in mine soils. *Environ Pollut*, 2003, **124**: 93~100
- 18 Ashley PM, Craw D, Graham BP, Chappell DA. Environmental mobility of antimony around mesothermal stibnite deposits, New South Wales, Australia and southern New Zealand. *J Geochem Explor*, 2003, **77**: 1~14
- 19 Hozhina EI, Khramov AA, Gerasimov PA, Kumarkov AA. Uptake of heavy metals, arsenic, and antimony by aquatic plants in the vicinity of ore mining and processing industries. *J Geochem Explor*, 2001, **74**: 153~162
- 20 Pratas J, Prasad MNV, Freitas H, Conde L. Plants growing in abandoned mines of Portugal are useful for biogeochemical exploration of arsenic, antimony, tungsten and mine reclamation. *J Geochem Explor*, 2005, **85**: 99~107
- 21 Dominguez MT, Maranon T, Murillo JM, Schulin R, Robinson BH. Trace element accumulation in woody plants of the Guadamar Valley, SW Spain: A large-scale phytomanagement case study. *Environ Pollut*, 2008, **152**: 50~59
- 22 Leduc C, Gardou C. Biochemical prospecting for antimony – Results of an orientation study on the Brouzils deposit (Vendée, France). *Bulletin de la société botanique de France – Actualités botaniques*, 1992. 139, 123
- 23 Oorts K, Smolders E, Degryse F, Buekers J, Gasco G, Cornelis G, Mertens J. Solubility and toxicity of antimony trioxide (Sb₂O₃) in soil. *Environ. Sci Technol*, 2008, **42**: 4378~4383
- 24 Tschan M, Robinson BH, Nodari M, Schulin R. Antimony uptake by different plant species from nutrient solution, agar and soil. *Environ Chem*, 2008, **6**: 144~152
- 25 He MC, Yang JR. Effects of different forms of antimony on rice during the period of germination and growth and antimony concentration in rice tissue. *Sci Total Environ*, 1999, **243~244**: 149~155
- 26 Ulrich N. Determination of antimony species with fluoride as modifier and flow injection hydride generation inductively coupled plasma emission spectrometry. *Anal Chim Acta*, 2000, **417**: 201~209
- 27 Niedzielski P, Siepak J, Siepak M. Total content of arsenic, antimony and selenium in groundwater samples from western Poland. *Polish J Environ Studies*, 2001, **10**: 347~350
- 28 Niedzielski P, Siepak M, Grabowski K. Microtrace Contents of arsenic, antimony and selenium in surface waters of Pszczewski Landscape Park as a region potentially free from anthropogenic pressure. *Polish J Environ Studies*, 2002, **11**: 547~553
- 29 Shotyk W, Krachler A. Contamination of bottled waters with antimony leaching from polyethylene terephthalate (PET) increases upon storage. *Environ Sci Technol*, 2007, **41**: 1560~1563
- 30 Andrewes P, Cullen WR, Polishchuk E. Arsenic and antimony biomethylation by *Scopulariopsis breëicaulis*: Interaction of arsenic and antimony compounds. *Environ Sci Technol*, 2000, **34**: 2249~2253
- 31 Sánchez-Rodríguez I, Huerta-Díaz MA, Choumiline E, Holguín-Quiñones O, Zertuche-González JA. Elemental concentrations in different species of seaweeds from Loreto Bay, Baja California Sur, Mexico: Implications for the geochemical control of metals in algal tissue. *Environ Pollut*, 2001, **114**: 145~160
- 32 Filella M, Belzile N, Lett M. Antimony in the environment: A review focused on natural waters. III. Microbiota relevant interactions. *Earth Sci Rev*, 2007, **80**: 195~217
- 33 Maeda S, Fukuyama H, Yokoyama E, Kuroiwa T, Ohki A, Naka K. Bioaccumulation of antimony by *Chlorella vulgaris* and the association mode of antimony in the cell. *Appl Organometallic Chem*, 1997, **11**: 393~396
- 34 Maeda S, Ohki A. Bioaccumulation and biotransformation of arsenic, antimony, and bismuth compounds by freshwater algae. In: Wong YS., Tam NFY eds. *Wastewater Treatment with Algae*. Springer-Verlag and Landes Bioscience, 1998. 73~92
- 35 Nam SH, Yang CY, An YJ. Effects of antimony on aquatic organisms (Larva and embryo of *Oryzias latipes*, *Moina macrocopa*, *Simocephalus mixtus*, and *Pseudokirchneriella subcapitata*). *Chemosphere*, 2009, **75**: 889~893
- 36 Zhang DY, Pan XL, Chen X, Mu GJ, Li LH, Bao AM. Toxic effects of antimony on photosystem II of *Synechocystis* sp. as probed by *in vivo* chlorophyll fluorescence. *J Appl Phycol*, 2010, **22**: 479~488