

## 微微型浮游植物的生态学研究进展

# The ecological research progress of picophytoplankton

孙晓庆, 董树刚

(中国海洋大学 生命科学与技术学部, 山东 青岛 266003)

中图分类号: Q948 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096 (2008) 05-0067-06

自 1979 年聚球藻 (*Synechococcus*) 被发现以来, 对以前为人们知之甚少的微微型 (粒径  $< 2 \mu\text{m}$ )、超微型 (粒径  $< 5 \mu\text{m}$ ) 浮游植物的研究逐渐形成并日益发展起来, 并成为当前海洋生态研究的热点之一。到目前为止, 这类广布于各种水体中的微小生物可分为聚球藻、原绿球藻 (*Prochlorococcus*) 和微微型真核浮游植物 (eukaryotic picophytoplankton) 3 大类。

浮游植物是海洋中最主要的生产者, 它代表了食物链的底层, 是水体食物链的启动者。食物网中不同粒级的生产者其能量流动方向和沉降特性均不同, 因此对初级生产过程的分粒级研究就显得尤为重要。微微型浮游植物作为浮游植物群落整体中个体极微小的那一部分, 对其进行研究是十分必要的。

微微型浮游植物 (又称为微微型自养浮游生物, APP), 在生态系统的能量流动和物质循环中起主要作用。APP 的发现改变了以往人们对海洋生态系统中食物网的认识。微微型浮游植物具有高生长率, 而且能够直接被微型浮游动物利用, 因此是许多水生生态系统中微食物环 (microbial loop) 的重要组成部分。在富营养海域, 微食物环是主食物链的一个补充, 提高了生态效率; 而在贫营养海域, 微食物环的作用更为突出。大陆架之外的大洋区环境相对比较稳定, 透光层深度多超过 100 m, 微微型浮游植物常构成初级生产者的优势类别, 那里生产力较低, 食物链平均达 6 个环节, 营养物质大部分在透光层矿化和再循环。

浮游植物的光合作用不仅能够制造有机物和释放  $\text{O}_2$ , 而且能够吸收  $\text{CO}_2$ , 从而使海洋成为大气  $\text{CO}_2$  的重要的汇, 是海洋生物泵的基础结构。有研究表明, 海洋吸收的大气  $\text{CO}_2$  中, 有 2/3 是由原绿球藻和聚球藻吸收的, 这 2 种海洋微微型浮游植物在全球变暖过程中起关键作用, 在浮游植物界也起主

导作用。

## 1 微微型浮游植物的生态学研究

微微型浮游植物在整个水生生态系统中占有重要地位, 在全球生产力中也占有重要比重。小的个体使其具有高的比表面积, 这使其具有高营养吸收率、高初级生产力和高生长率<sup>[1,2]</sup>。Agawin 等<sup>[3]</sup>报道, 就全球的海洋和沿岸河口而言, APP 占浮游植物生物量总量的 24%。微微型浮游植物广布于世界大洋中, 承担了整个大洋全部生产量的 90% 以上<sup>[4]</sup>。

浮游植物群落结构取决于环境的物理化学特性, 在海洋生态系统食物网动态中有重要作用。APP 通常在寡营养水域 (那里的水柱稳定性高) 中占优势; 在营养丰富的环境中, APP 在浮游植物生物量总量中所占的比例则相对较少。富营养生态系统中许多物种易受到威胁, 环境条件诸如低照度、缺氧、高 pH 值以及有毒或不可食藻类的出现都会对许多生物形成高选择压力<sup>[5]</sup>, 那里的食物网结构相对简单。

### 1.1 微微型浮游植物的海洋生态学研究

#### 1.1.1 国外的研究概况

Bienfang 等<sup>[6]</sup>报道, 夏威夷海域细胞粒径  $< 5 \mu\text{m}$  的超微型浮游植物叶绿素含量在浮游植物叶绿素总含量中高达 80%。Glover 等<sup>[7]</sup>在研究缅因州海湾周日光合速率变化时发现,  $< 3 \mu\text{m}$  的微型浮游植物在低光照条件下 (包括光周期起始, 真光层底部以及其他光强较低的情况) 对总初级生产力的贡献最大。Li 等<sup>[8]</sup>在研究北大西洋超微型浮游植物的垂

收稿日期: 2005-12-14; 修回日期: 2006-06-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (40276029); 福建省 908 专项项目 (LY-HW-2005, SC-HW-2005)

作者简介: 孙晓庆 (1981-), 女, 山东烟台人, 硕士研究生, 研究方向: 生态学, E-mail: qingqing4415@126.com; 董树刚, 通讯作者, 教授, 电话: 0532-82032342

直分布时发现,蓝细菌的平均粒径随深度的增加而增加,而真核生物的平均粒径则随深度的增加而减少;各种类型的细胞发出的荧光强度都随深度的增加而增加。Moreira-Turcq等<sup>[9]</sup>报道,北冰洋边海拉普帖夫海的微微型浮游植物的生物量随着深度的增加而减少,但微微型真核浮游植物在20~30 m的水深处仍然存在,这表明在低温(0~1℃)条件下,微微型浮游植物的光合作用仍大量存在。

在大洋水域中,微微型浮游植物和异养细菌含有相当多的颗粒有机碳。Li等<sup>[10]</sup>报道,马尾藻海北部海域的超微型浮游植物含有10%的颗粒碳。即使在沿岸富营养区域,其数量也相当可观。Binder等<sup>[11]</sup>报道,尽管太平洋赤道地区中部和东部海域表层水具有持续高浓度的N和P,但其微微型和超微型浮游植物对该海区初级生产力仍具有重要贡献。Moreira-Turcq等<sup>[12]</sup>在研究分别位于克罗地亚、法国和俄罗斯的三个河口系统时发现,微微型浮游植物在有机碳从河口向海洋的转移过程中有重要作用。但其机制有待于进一步研究。

### 1.1.2 国内研究概况

宁修仁<sup>[13]</sup>报道,微微型浮游植物在贫营养的开放性大洋中可以构成初级生产力的主体,粒径0.4~0.8 μm的原绿球藻在热带、亚热带寡营养海域可占总生产量的90%以上。陈纪新等<sup>[14]</sup>在研究厦门海域超微型浮游植物的群落结构时发现,超微型浮游植物占浮游植物总生物量的1.5%~11%,以绿藻为优势群。黄邦钦等<sup>[15]</sup>对台湾海峡微微型浮游植物的研究表明,含藻红素的蓝细菌在类群丰度和生物量上都占绝对优势。宁修仁等<sup>[16]</sup>报道,南海北部的微微型浮游植物中,原绿球藻存在表层和深层两个不同的种群,聚球藻的丰度峰值出现在营养丰富的水域。

总之,近年来对微微型和超微型浮游植物的研究主要着眼于大洋水域和沿岸水域。相比之下,对河口生态系统的研究较少。微微型浮游植物在有机碳从河口向海洋转移过程中的作用和机制有待于深入研究。

### 1.2 微微型浮游植物的淡水生态学研究

微微型浮游植物也广布于淡水生态系统中,许多研究表明蓝藻门的聚球藻在淡水生态系统中占有较大优势。Stockner<sup>[17,18]</sup>指出,微微型浮游植物和其他藻类一样,其丰度和生物体体积都随营养化程度的增高而增加,但在整个浮游植物的总体积和生产力中所占的比例会下降。也就是说,在寡营养水体中,微微型浮游植物在整个浮游植物中占有最重要地位;随着营养程度的增加,其比重下降,但其细胞数量仍然是在富营养条件下最大。

Vörös等<sup>[19]</sup>报道,在某些富营养和超营养湖中微微型浮游植物对整个初级生产力的贡献可高达50%。富营养生态系统APP的丰度和生物量随光照性质和强度、N限制以及污染状况等条件而有明显的变化。

Munawar等<sup>[20]</sup>用不同的重金属进行毒性试验,结果表明APP是微食物环中最敏感的生物之一。

在欧洲,不少学者就那里湖中微微型浮游植物的群落结构及其动态变化做过研究。相比较之下,对小型浅湖APP的研究颇少。Szelag-Wasielewska等<sup>[21]</sup>在研究波兰Skrzynka小浅湖时发现,在该寡营养湖中微微型浮游植物一年中出现3个丰度高峰:3月、8月和10月,并且以蓝藻为优势群,APP的生物量峰值与体型较大的浮游植物峰值不一致,APP的生物量随纤毛虫丰度的增加而明显减少。

Zippel等<sup>[22]</sup>报道,微微型真核浮游植物是低盐湖(盐度6.5~8)中浮游植物的重要组成部分,具有生长优势,这是因为它们具有细胞体积小,对无机营养盐的吸收率高和对低强度光有效利用的特点。

对微微型浮游植物的研究目前已延伸到极地。朱根海等<sup>[23]</sup>报道,南极普里兹湾及其邻近海域微微型浮游植物对整个浮游植物叶绿素a的贡献率达20%。

国内微微型浮游植物的淡水生态学研究至今尚未见报道。

## 2 微微型浮游植物的分析方法

由于微微型浮游植物个体小,发出的荧光较弱,鉴定有一定困难;用传统的荧光显微技术对其进行计数很费时费力,使其成为微微型浮游植物研究中的主要障碍。尤其是当研究河口生态系统时,由于其中含有大量矿物颗粒和有机碎屑,又给研究增加了困难。

流式细胞仪(Flow CytoMeter,FCM)的出现,推动了微微型浮游植物的研究进程。FCM能对不同种类的微微型浮游生物进行快速有效的测定。许多学者利用它来研究水体中的微微型浮游生物,并获得了准确的结果。利用FCM来计算微微型浮游生物的生物量才起步不久。对生物量的估算可通过对细胞体积、原生质体积或表面积获得<sup>[24]</sup>,而细胞体积较其他参数更能反映细胞的碳生物量。但是用细胞体积估算碳生物量时,特别是当硅藻在浮游植物中占优势时,种间差异是造成误差的重要因素。

到目前为止,微微型浮游植物的研究方法主要有以下3种。

### 2.1 荧光显微技术

#### 2.1.1 荧光显微技术原理

光源发出的光经标准滤光片过滤得到绿色和

蓝色激发光, 浮游植物的光合色素受激发光激发产生荧光, 在高放大倍数下, 根据微微型浮游植物细胞自发荧光的颜色、形状、大小对微微型浮游植物的不同类群进行区分并计数<sup>[25,26]</sup>。

### 2.1.2 分析方法

#### 2.1.2.1 样品的处理

将采集的水样于黑暗低温条件下用多聚甲醛或戊二醛现场固定。子样品用直径 25 mm, 孔径 0.2  $\mu\text{m}$  的核孔滤膜过滤 (抽滤瓶内压强 < 13.3 kPa)。黄邦钦等<sup>[27]</sup>还提出了一种可以长期保存微微型浮游植物滤膜的方法。

#### 2.1.2.2 计数方法

将过滤后的滤膜置于表面荧光显微镜下计数。通常每个样品随机取 20~30 个视野计数, 在每个视野内, 通过切换蓝色和绿色滤光片, 以获得含藻红素的蓝细菌 (PE 细胞)、含藻蓝素的蓝细菌 (PC 细胞) 以及以叶绿素为主要色素的微微型真核浮游植物 (EU 细胞) 3 种类群。其中 PE 细胞和 EU 细胞在蓝光激发下分别发出橙黄色和红色荧光, PC 细胞数目为两种激发光下细胞总数的差值<sup>[27]</sup>。

#### 2.1.2.3 方法的改进

由于微微型浮游植物的自发荧光很弱, 黄邦钦等<sup>[27]</sup>对 Booth 和 MacIsaac 等所述的方法加以改进, 通过加大高压汞灯的功率和将蓝光激发改为蓝紫光激发的办法来增强微微型浮游植物的自发荧光强度。

## 2.2 HPLC 色素分析法

### 2.2.1 HPLC 色素分析法原理

不同的藻类有着不同的色素组成, 它们代表不同的进化方向, 是藻类分类的主要依据之一<sup>[28]</sup>。特别是某些色素为某类藻所特有, 这些特征色素可用来表征水生生态系统中浮游植物群落组成或藻类动态<sup>[29,30]</sup>。高效液相色谱 (HPLC) 是当前色素分析的有力工具, 利用 HPLC 进行色素分析, 能够为浮游植物的群落结构及动态变化提供有力依据。

### 2.2.2 分析方法

#### 2.2.2.1 样品的处理方法

于暗处用纤维滤膜过滤水样 (每份 3~10 L), 于液氮中冷冻保存 (采样后 3 h 内), 以提高萃取效率和减少色素降解; 样品分析时, 将滤膜剪碎, 用 3 mL 丙酮或乙醇萃取, 超声波处理 10~20 min, 低温暗处放置 24 h; 将色素提取物摇匀后离心以除去细胞和滤膜碎屑; 上清液再用 PTFE 滤膜 (0.45  $\mu\text{m}$ ) 或 GF/F 滤膜过滤<sup>[14,31,32]</sup>。整个过程均应在低温、暗处进行, 以减少色素降解。

#### 2.2.2.2 色素分析法

将待测的色素提取液打入 HPLC 的自动进样

器, 与流动相混合, 样品中的色素流经色谱柱而得以分离, 最后通过二极管阵列检测器检测洗出峰。其中流动相一般由 A、B 两部分组成, 二者各自的组成及配比视具体情况而定。根据标准物质的保留时间和吸收光谱特性对样品中的色素进行定性和定量分析<sup>[33]</sup>。不同藻类群体在浮游植物中所占的比例可使用 CHEMTAX 程序计算<sup>[34]</sup>, 也可根据 Letelier 等<sup>[35]</sup>给出的色素换算公式, 对浮游植物的群落组成量化表示。

## 2.3 流式细胞术

### 2.3.1 流式细胞术的特点

流式细胞仪 (FCM) 自 70 年代被发明以来, 最早应用于免疫学、血液学, 之后随着技术的改进和应用范围的推广, 现已成为微微型浮游植物分析快速而准确的工具。流式细胞术就是对处在快速直线流动状态中的细胞或生物颗粒进行多参数的、快速的定量分析和分选的技术。它的最大特点就是能从一个细胞中测得多个参数, 另外, 还能从大量颗粒中分辨出生命颗粒和非生命颗粒<sup>[9]</sup>, 特别适合于富含悬浮性矿物颗粒和有机碎屑的河口生态系统微微型浮游生物的研究<sup>[12]</sup>。研究表明, FCM 是研究河口系统中微微型浮游生物细胞的一种新的有效的手段。

### 2.3.2 流式细胞术测定法原理

流式细胞仪通常以 488 nm 激光作为光源。当单个带有荧光素标记物或具有自发荧光色素的细胞通过激光照射区时, 受激发产生荧光信号, 这些信号以细胞为中心, 向空间 360° 立体角发射, 产生散射光和荧光信号, 前者被称为细胞的物理参数。散射光分为前向角散射 (FSC) 和测向角散射 (SSC), 其中 FSC 与被测细胞的大小有关; SSC 可提供有关细胞内精细结构和颗粒性质的信息。在 FCM 应用中, 通常选取 FSC 作阈值, 以排除样品中各种碎片及鞘液中小颗粒对被测细胞的干扰<sup>[36]</sup>。

浮游植物都含有光合色素, 受激发能发出荧光——自发荧光, 并且不同色素的荧光特性不同。蓝藻含藻红蛋白, 受激发产生桔黄色荧光 (560 nm  $\pm$  30 nm 带通滤光片), 明显区别于其他类群。原绿藻和微微型真核藻类所含光合色素相似 (均含有叶绿素或其衍生物), 受激发发出红色荧光 (630 nm 长通滤光片), 因此还需要结合其他特征, 如细胞大小、荧光强弱等加以区分<sup>[37]</sup>。

### 2.2.3 测定方法

将水样置于暗处 20 min, 用多聚甲醛或戊二醛固定, 置于液氮中保存以供上岸后分析。聚球藻、原绿球藻和微微型真核藻类根据其各自的散射光和荧光特征加以辨别<sup>[38,39]</sup>。

### 2.3.4 存在的问题

张利华等<sup>[40]</sup>报道,经固定剂固定后的生物样品,其细胞大小和荧光强度较固定前有较大变化。考虑到固定剂对细胞固定前后的影响,有些学者用随船装载的流式细胞仪对生物样品不经过处理现场分析,以获得更为准确的结果。但流式细胞仪毕竟为精密仪器,体积较大,携带有一定困难,这给现场分析增加了难度。

## 2.4 3种研究方法比较

### 2.4.1 荧光显微技术

由于微微型浮游植物个体很小,不易辨认,发出的荧光又较弱。因此对其计数耗时大,人为误差明显,并且仅对浮游植物量化表示并不能反映其生理状况。

### 2.4.2 HPLC 色素分析法

该法能够快速、有效地对色素进行定性和定量分析。特征性光合色素量化能够表示浮游植物群落结构,并且色素也是浮游植物分类的重要依据之一。色素分析法能够涵盖浮游植物的全部粒级范围,且适用于大批量样品的分析,甚至可以实现现场测定。色素可反映浮游植物的生理状况,还被用来研究藻类水华动态。

HPLC 的不足之处表现在:色素提取时破坏了生物个体,因此色素分析法看不到生物体的个体形态;色素仅能提供浮游植物分类学上化学成份方面的依据。另外,光照强度的变化可能对某些细胞色素含量有显著影响。Henriksen 等<sup>[41]</sup>发现光照强度的变化对细胞内玉米黄质与叶绿素 a 的比值有显著影响;他还发现一些丝状蓝藻与其相应的单细胞相比具有不同的玉米黄质与叶绿素 a 的比值<sup>[42]</sup>,这说明色素分析法也存在一定的不确定性。

### 2.4.3 流式细胞术

流式细胞仪作为一种新兴的仪器,用其研究微微型浮游植物具有快速、准确的特点。它能从一个细胞中获得多个参数(包括细胞的大小、形状及内容物情况等);它能够将无机颗粒物、非生命有机物和生命有机物区分开来,从而减少了非生物颗粒的干扰。但由于仪器精密、体积较大,一般的调查船不具备将其随船携带的条件,这给微微型浮游植物的现场测定带来了困难。另外,鉴于目前所用固定剂对生物样品的细胞大小和荧光强度的明显影响,寻找更为合适的固定剂和更完善的保存方法成为海洋生态学中亟待解决的问题。

## 3 小结

微微型浮游植物是作为海洋生物泵的重要组成部分,在控制全球 CO<sub>2</sub> 含量及调节全球气候方面

有重大作用,但这在以往往往被人们所忽视。微微型和超微型浮游植物是贫营养生态系统(特别是大洋系统)初级生产力的主要贡献者,而在富营养生态系统中所占的比例则相对较低。

利用表面荧光显微镜计数微微型浮游植物的最大缺点就是耗时,人为误差明显。利用 HPLC 对浮游植物特征色素进行分析,可得到浮游植物全粒级的群落组成,这是它较流式细胞仪和表面荧光显微镜的优点;但由于细胞色素含量存在一定的波动性,使色素分析的准确度下降。流式细胞仪是当今分析微微型浮游植物快速而有效的工具,它具有前两种方法不可比拟的优点,但其携带不方便,因此只有寻找更为合适的固定剂和更完善的保存方法,才能保证其结果的进一步准确。

总之,微微型浮游植物的生态学研究是近几年来正在崛起的国际前沿领域。除生物量研究外,还应开展对其生理活性的研究,这将为生态系统能流估计及生态环境评价提供技术指标。对微微型浮游植物的分类、生理生态、营养行为和摄食关系等方面进行全面而深入的研究,对深入理解海洋生态系统中微生物环的结构和功能、生源要素循环、能量的传递途径和输出,以及对海洋生态系统对资源和气候的影响等重要问题具有深远的意义。

### 参考文献:

- [1] Raven J A. Physiological consequences of extremely small size for autotrophic organisms in the sea[J]. *Can J Fish Aquat Sci*, 1986, 214: 1-70.
- [2] Zevenboom W. Ecophysiology of nutrient uptake, photosynthesis and growth[J]. *Can J Fish Aquat Sci*, 1986, 214: 391-422.
- [3] Agawin N S R, Duarte C M, Agustí S. Nutrient and temperature control of the contribution of picoplankton to phytoplankton biomass and production[J]. *Limnology and Oceanography*, 2000, 5: 591-600.
- [4] 陈超群, 陈世杰. 浮游植物初级生产理论的新进展[J]. 福建水产, 1995, 1:78-80.
- [5] Robarts R D. The significance of autotrophic and heterotrophic picoplankton in hypertrophic ecosystems Ruben Sommaruga[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1997, 24:187-200.
- [6] Bienfang P K, Szyper J P. Phytoplankton dynamics in the subtropical Pacific Ocean off Hawaii[J]. *Deep Sea*

- Research Part I :Oceanographic Research Papers,** 1981, **8(9):**981-1 000.
- [7] Glover H E, Phinney D A, Yentsch C S. Photosynthetic characteristics of picoplankton compared with those of larger phytoplankton populations, in various water masses in the Gulf of Maine[J]. **Biol Oceanogr**, 1985, **3(3):**223-248.
- [8] Li W K W, Wood A M. Vertical distribution of North Atlantic ultraphytoplankton: analysis by flow cytometry and epifluorescence microscopy[J]. **Deep Sea Research Part I : Oceanographic Research Papers**, 1988, **35(9):**1 615-1 638.
- [9] Moreira-Turcq P F, Martin J M. Characterisation of fine particles by flow cytometry in estuarine and coastal Arctic waters[J]. **Journal of Sea Research**, 1998, **39(3-4):** 217-226.
- [10] Li W K W, Dickie P M, Irwin B D, *et al.* Biomass of bacteria, cyanobacteria, prochlorophytes and photosynthetic eukaryotes in the Sargasso Sea[J]. **Deep Sea Research Part I : Oceanographic Research Papers**, 1992, **39(3-4):**501-519.
- [11] Binder B J, Chisholm S W, Olson R J, *et al.* Dynamics of picophytoplankton, ultraphytoplankton and bacteria in the central equatorial Pacific[J]. **Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography**, 1996, **43(4-6):**907-931.
- [12] Moreira-Turcq P F, Cauwet G, Martin J M. Contribution of flow cytometry to estimate picoplankton biomass in estuarine systems[J]. **Hydrobiologia**, 2001, **462:**157-168.
- [13] 宁修仁. 海洋微型和超微型浮游生物[J]. 东海海洋, 1997, **15 (3) :**60-64.
- [14] 陈纪新, 黄邦钦. 利用光合色素研究厦门海域超微型浮游植物群落结构[J]. 海洋环境科学, 2003, **22 (3) :**16-21.
- [15] 黄邦钦, 洪华生, 林学举, 等. 台湾海峡微微型浮游植物的生态研究 II. 类群组成、生长速率及其影响因素[J]. 海洋学报, 2003, **25(6) :**99-105.
- [16] 宁修仁, 蔡昱明, 李国为, 等. 南海北部微微型光合浮游生物的丰度及环境调控[J]. 海洋学报, 2003, **25(3) :**83-97.
- [17] Stockner J G. Phototrophic picoplankton: an overview from marine and freshwater cosystems[J]. **Limnol Oceanogr**, 1988, **33 :**765-775.
- [18] Stockner J G. Autotrophic picoplankton in freshwater ecosystems: the view from the summit[J]. **Int Rev Ges Hydrobiol**, 1991, **76 :**482-492.
- [19] Vörös L, Gulyás P, Németh J. Occurrence, dynamics and production of picoplankton in Hungarian shallow lakes[J]. **Int Rev Ges Hydrobiol**, 1991, **75 :**617-629.
- [20] Munawar M, Munawar I F, Norwood W P, *et al.* Significance of autotrophic picoplankton in the Great Lakes and their use as early indicators of contaminant stress[J]. **Arch Hydrobiol Beih Ergebn Limnol**, 1987, **25 :**141-155.
- [21] Szelag-Wasielewska E. Autotrophic picoplankton dynamics in a small shallow lake[J]. **Hydrobiologia**, 1999, **408-409 :**301-306.
- [22] Zippel B, Schimmele M. Composition and dynamics of autotrophic picoplankton and spectral light distribution in saline lignite mining lakes of Germany[J]. **Aquatic Ecosystem Health and Management**, 1999, **2(3) :** 319-329.
- [23] 朱根海, 宁修仁, 蔡昱明, 等. 1998、1999 年南极普里兹湾邻近海域浮游植物的分布特征[J]. 植物学报, 2003, **45 (4) :**390-398.
- [24] Strathmann R R. Estimating the organic carbon content of phytoplankton from cell volume or plasma volume[J]. **Limnol Oceanogr**, 1967, **12 :**411-418.
- [25] Booth B C. Estimating cell concentration and biomass of autotrophic plankton using microscopy[A]. Kemp P F, Sherr B F, Sherr E B, *et al.* Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology[C]. Boca Raton, Fla : Lewis Publishers, 1993.199-205.
- [26] MacIsaac E A, Stockner J G. Enumeration of phototrophic picoplankton by autofluorescence microscopy[A]. Kemp P F, Sherr B F, Sherr E B, *et al.* Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology[C]. Boca Raton, Fla : Lewis Publishers, 1993. 187-197.
- [27] 黄邦钦, 洪华生, 林学举. 台湾海峡微微型浮游植物的生态研究 I. 时空分布及其调控机制[J]. 海洋学报, 2003, **25(4):**72-82.

- [28] Rowan K S. Photosynthetic Pigments of Algae[M]. London: Cambridge University Press, 1989.334.
- [29] Wilhelm C H, Rudolf I, Renner W. A quantitative method based on HPLC-aided pigment analysis to monitor structure and dynamics of the phytoplankton assemblage—a study from lake Meerfelder Maar(Eifel, Germany)[J]. **Archivfur Hydrobiologia**, 1991, 123:21-35.
- [30] Yacobi Y Z, Pollingher U, Gonen Y, *et al.* HPLC analysis of phytoplankton pigments from Lake Kinneret with special reference to the bloom forming dinotlagellate *Peridinium gatouense* mad chlorophyll degradation products [J] . **Journal of Plankton Research** , 1996, **18**(10):1 781-1 796
- [31] Estrada M, Henriksen P, Gasol J M, *et al.* Diversity of planktonic photoautotrophic microorganisms along a salinity gradient as depicted by microscopy, flow cytometry, pigment analysis and DNA-based methods[J]. **FEMS Microbiology Ecology**, 2004, **49**(2):281-293.
- [32] Andersen R A, Bidigare R R, Keller M D, *et al.* A comparison of HPLC pigment signatures and electron microscopic observations for oligotrophic waters in the North Atlantic and Pacific Oceans[J] . **DeepSea Research II: Topical Studies in Oceanography**, 1996, **43**: 517-537.
- [33] Wright S W, Jeffrey S W, Mantoura R F C, *et al.* Improved HPLC method for the analysis of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton[J] . **Marine Ecology Progress Series**, 1991, **77**:183-196.
- [34] Mackey M D, Mackey D J, Higgins H W, *et al.* CHEMTAX-a program for estimating class abundances from chemical markers: application to HPLC measurements of phytoplankton[J]. **Mar Ecol Prog Ser**, 1996, **144**: 265-283.
- [35] Letelier R M, Bidigare R R, Hebel D V, *et al.* Temporal variability of phytoplankton community structure based on pigment analysis[J]. **Limnology and Oceanography**, 1993, **38**(7):1 420-1 437.
- [36] 张芝. 流式细胞仪构成与工作原理[J]. 医疗设备信息, 2005, **20** (8) :25-26.
- [37] 孙书存, 陆健健, 张利华. 流式细胞仪在微型浮游植物生态学中的应用[J]. 生态学杂志, 2000, **19** (1) :72-78.
- [38] Olson R L, Zettler E R, DuRand M D. Phytoplankton analysis using flow cytometry[A]. Kemp P F, Sherr B F, Sherr E B, *et al.* Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology[C] . Boca Raton, Fla : Lewis Publishers, 1993.175-186.
- [39] Olson R L, Chisholm S W, Zettler E R, *et al.* Spatial and temporal distributtons of prochlorophyte picoplankton in the North Atlantic Ocean[J]. **Deep Sea Research**, 1990, **37**:1 033-1 051.
- [40] 张利华, 晁敏. 戊二醛固定剂对海洋微微型浮游植物特性的影响[J]. 华东师范大学学报, 2004, **3**:93-98.
- [41] Henriksen P, Riemann B, Kaas H, *et al.* Effects of nutrient limitation and irradiance on marine phytoplankton pigments[J] . **Journal of Plankton Research**, 2002, **24**:835-858.
- [42] Henriksen P . Estimating nodularin content of cyanobacterial blooms from abundance of *Nodularia spumigena* and its characteristic pigments – a case study from the Baltic entrance area[J]. **Harmful Algae**, 2005, **4**(1):167-178.

( 本文编辑: 张培新 )