

叶绿素荧光检测技术在浮游植物营养盐限制研究中的应用

The application of chlorophyll fluorescence detection techniques in the study of phytoplankton nutrient limitation

王昭玉,王江涛

(中国海洋大学 海洋化学理论与工程技术教育部重点实验室,山东 青岛 266100)

中图分类号:Q945.78

文献标识码:A

文章编号:1000-3096(2008)12-0097-05

浮游植物是海洋中最主要的初级生产者,为海洋中其他生物提供最初营养和能量来源,但其生长经常受到 N、P、Si、Fe 等营养元素的限制。一般来说,营养盐限制是时空变化的。因此,检测出何种营养盐为限制因子,对了解生态环境,进行水质监控^[1]具有重要意义。

检测浮游植物营养盐限制的方法有很多,如通过细胞内各营养元素的比值,营养盐强化前后叶绿素、光合作用速率的变化来判断限制浮游植物生长的营养元素^[2]。这些方法虽然比较成熟,但普遍存在测定方法复杂、测量时间较长、需要破坏细胞等缺点^[1]。而叶绿素荧光检测技术以活体藻细胞的叶绿素作为指示分子,研究营养盐对浮游植物的限制情况,具有快速、灵敏、操作简单、对细胞无损伤优点。本文介绍了叶绿素荧光检测技术的基本原理及其在检测营养盐限制研究中的应用现状和发展前景,以期对营养盐限制检测方法的进一步发展和完善有所帮助。

1 叶绿素荧光检测技术

1.1 叶绿素荧光的产生

叶绿素分子吸收光量子后被激发,其电子从基态(低能态)跃迁到激发态(高能态)。吸收红光后,电子跃迁到最低激发态;吸收蓝光后,电子跃迁到能量更高的激发态(较高激发态)。处于激发态的叶绿素分子很不稳定,较高激发态的电子在几百飞秒(fs, $1\text{ fs} = 10^{-15}\text{ s}$)内释放热量,回到最低激发态;最低激发态的叶绿素分子存在几纳秒(ns, $1\text{ ns} = 10^{-9}\text{ s}$)后,通过以下三种途径,释放能量回到稳定的基态:

(1) 新放出一个光子,回到基态,即产生叶绿素荧光;
(2) 不放出光子,直接以热的形式耗散掉;
(3) 将能量传递到反应中心,用于光合作用^[3](图1)。由此可见,叶绿素荧光是植物吸收的一小部分光重新以光的形式发射出来。

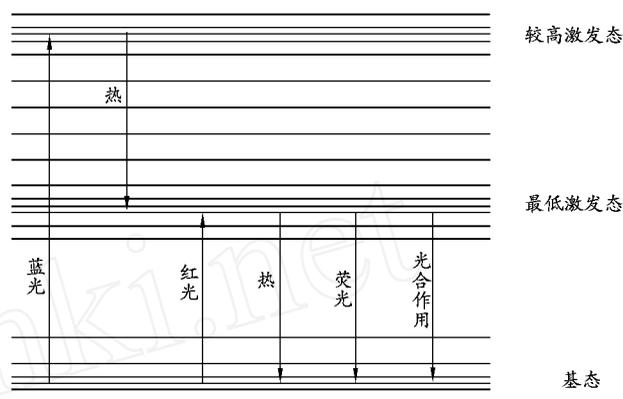


图1 叶绿素吸收光能后能级的变化

1.2 检测营养盐限制的基本原理

浮游植物生长过程中,其叶绿素吸收的光能主要分成3部分:一部分用于发射叶绿素荧光,一部分以热的形式耗散,还有一部分用于光合作用(图2)。由于吸收的光能是一定的,以上三个过程之间此消

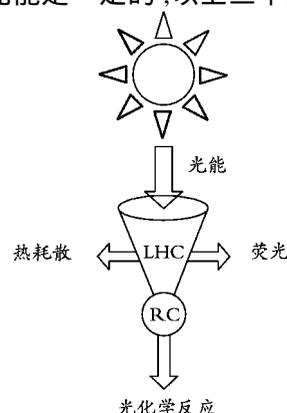


图2 叶绿素吸收的光能的三种用途^[3]

LHC:捕光色素蛋白复合体;RC:反应中心

LHC: short for light harvesting pigment protein complex; RC: short for reaction center

收稿日期:2006-05-09;修回日期:2006-08-26

作者简介:王昭玉(1983-),女,山东青岛人,博士研究生,主要从事海洋生态学研究,E-mail:t.31@163.com;王江涛,通讯作者,博士,教授,博士生导师,电话:0532-66782506,E-mail:jtwang@ouc.edu.cn

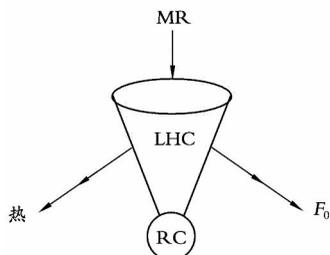
彼长,光合作用的变化便会引起叶绿素荧光的相应变化,因此,任何外界因子对光合作用的影响都可以通过叶绿素荧光参数的变化反映出来。而营养盐是浮游植物生长必不可少的重要因子,当 N、P、Si、Fe 等营养元素缺乏或比例失衡时,浮游植物的光合作用就会受到影响,因此可以通过叶绿素荧光参数的变化来检测浮游植物营养盐的限制情况。

1.3 常用参数

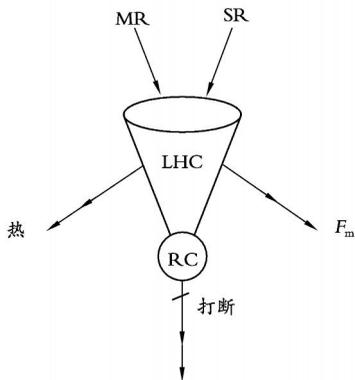
常用的叶绿素荧光参数为 F_0 、 F_m 和 F_v/F_m ,其含义见表 1。测定仪器有 PAM (Pulse Amplitude Modulated) 荧光仪、FRR (Fast Repetition Rate) 荧光仪等。一般是将单细胞藻类悬浮液经充分暗适应

表 1 常用的叶绿素荧光参数^[2,3]

参数	意义
F_0 (初始荧光)	暗适应状态下当光系统 (PS) 的所有反应中心处于完全开放状态并且所有的非光化学过程处于最小时的荧光。
F_m (最大荧光)	暗适应状态下当 PS 的所有反应中心处于完全关闭状态(即不进行任何光化学反应)并且所有的非光化学过程处于最小时的荧光。
F_v (最大可变荧光)	暗适应状态下当所有的非光化学过程处于最小时的 ^{最大可变荧光} 。 $F_v = F_m - F_0$
F_v/F_m (PS 的最大光化学量子产量)	用于 PS 光化学反应的光能占 PS 吸收的总光能的最大比例。是指当所有的 PS 反应中心均处于开放状态时的量子产量。 $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ $0 < F_v/F_m < 1$



光化学反应
图 3-1



光化学反应
图 3-2

图 3 叶绿素荧光参数产生机理^[3]

MR:很弱的可见光;SR:强饱和光

MR:short for mearsuing radiation ;SR :short for saturation radiation

(10~20 min)后,用很弱的可见光照射,即得到 F_0 (图 3-1)。再给一强饱和光,由于强饱和光的照射使 PS 的所有反应中心暂时完全关闭,不进行任何光化学反应,吸收的光能全部被转化为荧光和热能,所以荧光迅速上升到最大值即 F_m (图 3-2)。通过 F_0 、 F_m 可以计算出 F_v/F_m 。 F_v/F_m 被称为 PS 的最大光化学量子产量,其推导过程如下^[4,5]:

(1) PS 叶绿素吸收的光能分别用来进行光化学反应、热耗散、发射荧光,三者进行各自过程所利用的光能占总吸收光能的比例(量子产量)分别用 p 、 d 、 f 表示。根据能量守恒定律:

$$p + d + f = 1 \quad (1)$$

(2) 当强饱和光照射藻细胞时,PS 的所有反应中心被暂时完全关闭,不进行任何光化学反应,吸收的光能全部被转化为荧光和热能,因此 $p = 0$,

$$f = (f)_m, d = (d)_m, (d)_m + (f)_m = 1 \quad (2)$$

(3) 在任何情况下, d 与 f 的比值是恒定的,即

$$d/f = (d)_m / (f)_m \quad (3)$$

通过公式(2)可以得到: $(d)_m = 1 - (f)_m$ (4)

由公式(3)、(4)可以推出:

$$d = f / (f)_m - f \quad (5)$$

联立公式(1)、(5),可以得到:

$$p = 1 - f - [f / (f)_m - f] = [(f)_m - f] / (f)_m = (F_m - F) / F_m$$

在暗适应状态下,当 PS 的所有反应中心处于完全开放状态,并且所有的非光化学过程处于最小时,光化学反应最大, $p = (p)_m$,得到的荧光为 F_0 ,因此,最终可以推出 $(p)_m = (F_m - F_0) / F_m = F_v / F_m$,即用 F_v / F_m 来表示 PS 的最大光化学量子产量。

2 研究现状

研究表明,在营养盐充足的条件下, F_v/F_m 比值变化很小,但在营养盐限制时, F_v/F_m 比值明显降低。所以,可以通过营养盐添加前后 F_v/F_m 比值的变化来检测浮游植物的营养盐限制情况。一般是将各种营养盐添加到水样中,在 24 h 后取样测量 F_v/F_m 比值。如果添加某种营养盐后, F_v/F_m 比值显著增加,则说明此种营养盐限制了浮游植物的生长。目前,

国外学者在实验室培养条件下初步证明了此种方法的可行性,但将此种方法应用到现场海域的研究较少,而国内由于仪器设备的限制,相关研究更少。

2.1 实验室培养条件下的研究成果

应用 F_v/F_m 比值来检测浮游植物 N 限制情况的较多。Young 等^[6]的研究结果表明,盐生杜氏藻 (*Dunaliella tertiolecta*) 在缺 N 的条件下培养 4 d 后, F_v/F_m 比值从 0.6 左右下降到约 0.2。重新添加 N 源后, F_v/F_m 比值在大约 30 min 时开始增加, 5 ~ 10 h 时增长速率最大, 24 h 内完全恢复。尹翠玲^[7]测量了不同 N 浓度下 6 种微藻叶绿素荧光参数的变化, 发现当 N 限制时, 随着 N 浓度的降低, 培养时间的延长, F_v/F_m 比值下降的幅度逐渐增大。重新添加 N 源后, F_v/F_m 比值逐渐升高, 浓度越低、接种后时间越长, 上升的幅度越大, 24 h 之内基本恢复。Steglich 等^[8]研究发现, 蓝藻 (*Prochlorococcus marinus*) 在营养盐充足条件下, F_v/F_m 比值为 0.66, 但当 N 限制时, F_v/F_m 比值从 2 h 起开始下降。Cleveland 等^[9]对纤角毛藻 (*Chaetoceros gracilis*) 的研究发现, N 限制条件下 F_v/F_m 比值下降了 46%。这可能是由于 N 是蛋白质、叶绿素、与光合作用有关的酶的必要组成成分^[10-12], 当藻细胞缺 N 时, PS 吸收的光能大于需要的光能, 使 PS 的活性反应中心部分损坏, 光能转化效率、电子传递效率降低, 从而导致 F_v/F_m 比值下降^[8-11]。Berges 等^[13]的研究发现, 在缺氮条件下蓝藻 (*Synechococcus* sp. PCC 7002)、绿藻 (*Dunaliella tertiolecta*)、硅藻 (*Thalassiosira weissflogii*) F_v/F_m 比值下降的程度逐渐增大, 分别下降了 24%、40%、46%。这是由于 N 限制主要影响 PS 的功能, 硅藻 PS 和 PSI(光系统 I) 的比值大于绿藻、蓝藻 PS 和 PSI 的比值。

F_v/F_m 比值也常用来检测浮游植物 P 限制的情况。Beardall 等^[1]的实验结果表明, 将 PO_4 添加到受 P 限制的 4 种微藻中, 经过 24 h 后, 4 种微藻的 F_v/F_m 比值均显著增加。Lippemeier 等^[12]将威氏海链藻 (*Thalassiosira weissflogii*) 放在缺 P 的条件下培养 3 d, 发现 F_v/F_m 比值由 0.64 下降到 0.59, 重新加入 P 后, F_v/F_m 比值上升至 0.63。Geider 等^[11]研究发现, 在 P 限制条件下, 盐生杜氏藻的 F_v/F_m 比值由 0.65 下降到 0.39。这可能是由于 P 与 ATP 的合成、光合磷酸化水平有关^[11, 12]。藻细胞中 P 浓度的降低, 会导致光合磷酸化水平下降, ATP 合成减少, Calvin 循环效率下降, $NADP^+$ 和 NADPH 再循环受阻, 而 $NADP^+$ 是光合电子传递链 PSI 端的最终电子受体, 其供应量不足, 必然会引起 PS 功能的下降, 所以 F_v/F_m 比值下降^[14-18]。

一些研究成果表明, F_v/F_m 比值也可以用来检测浮游植物 Si、Fe 的限制情况。Lippemeier 等^[19]研究了不同浓度的 Si 对纤角毛藻的影响, 结果表明,

当 Si 限制时 F_v/F_m 比值下降; 当 Si 恢复正常浓度后, F_v/F_m 比值在 20 min 内迅速上升。Lippemeier 等^[12]将威氏海链藻放在缺 Si 的条件下培养 3 d, 发现 F_v/F_m 比值由 0.65 下降到 0.56, 重新加入 Si 后, F_v/F_m 比值上升到 0.67。Geider 等^[10]把三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricornutum*) 分别放在缺乏 N、P、Fe 的培养基中培养 4d, 发现 F_v/F_m 比值均显著降低, 而缺 P 的藻细胞 F_v/F_m 比值降低的相对较少。这可能是因为缺 P 的藻细胞含有更高的硅藻黄素与硅甲藻黄素的比值, 可以耗散更过的过剩光能, 从而减轻过剩光能对 PS 活性反应中心的损坏。当把限制性营养盐重新加入到培养基中, F_v/F_m 比值在 24 h 内均完全恢复。Roche 等^[20]在研究盐生杜氏藻时也发现了类似的现象。

以上研究结果表明, 应用 F_v/F_m 比值检测单一藻种受到不同营养盐限制的情况是可行的。但研究的微藻种类、限制性营养盐种类较少, 今后需要进行深入研究。而天然水域往往同时存在多种浮游植物, 且它们的生长可能同时受到多种营养盐的限制, 但至今尚未有混合藻种以及藻种同时受到多种营养盐限制的研究报道, 因此今后需对这些情况进行研究, 以期将实验室成果应用到天然水域。

2.2 天然水域的研究成果

目前, 应用 F_v/F_m 比值检测天然水域营养盐限制情况的较少。Gobler 等^[21]于 2000 年夏季、2001 年春季对 East River、Long Island Sound 附近水域进行了调查, 向水样中分别加入了适量的 N、P、Si。结果发现, 夏季 Long Island Sound 附近所有水域的海水在加入 N 后, F_v/F_m 比值均显著增加, 说明夏季这些水域受到 N 的限制。春季, Long Island Sound 西部的海水在加入 Si 后, F_v/F_m 比值增加明显, 说明春季该海域 Si 是限制性因素; 而 Long Island Sound 东部的海水在加入 N、P、Si 后, F_v/F_m 比值均没有变化, 表明春季此海域营养盐充足。Behrenfeld 等^[22]向赤道太平洋 HNLC 区域的水样中添加了 Fe, F_v/F_m 比值在 24 h 内从 0.25 增加到 0.55, 说明该海域受到 Fe 的限制。类似的现象在其他 HNLC 区域也有发生^[23-26]。一些学者研究表明当现场海域营养盐充足时 F_v/F_m 比值较高, 而受到营养盐限制时 F_v/F_m 比值较低^[27-30]。Geider 等^[27]发现, 马尾藻海域表层水 F_v/F_m 比值较低, 这是由于该区域受到 N 限制, 浮游植物光合作用能量转化受到影响的缘故。Moore 等^[30]在春季赤潮爆发期间对 Iceland Basin 和 Rockall Trough 附近海域进行了研究, 发现在赤潮早期营养盐充足时, F_v/F_m 比值较高, 因此, 可以通过比较赤潮不同阶段的 F_v/F_m 比值, 确立一个赤潮的现场快速检测指标, 为赤潮的快速初步判定和建立赤潮管理快速响应机制服务^[31]。

天然水域与实验室培养不同, F_v/F_m 比值往往受

到多种因素的共同影响,如温度、光照、营养盐等,且天然水域中同时存在多种浮游植物,其生物组成也可能随着季节等因素发生变化,因此如何利用 F_v/F_m 比值来检测天然水域中浮游植物的营养盐限制,需要进行深入细致的研究。

可见,叶绿素荧光检测技术可以用来检测浮游植物的营养盐限制情况。但一些研究者却提出了不同观点,认为这种方法并不是在所有的条件下都适用。其只能用来检测处于“营养盐饥饿”状态下(Nutrient Starvation)的浮游植物,而当浮游植物处于“营养盐限制”状态(Nutrient Limitation)并适应了此种状态后, F_v/F_m 比值在营养盐添加前后始终保持较高且稳定,对营养盐限制不再敏感,因此,此种方法不能用来检测处于“营养盐限制”状态下的浮游植物^[4,32]。这两种状态下 F_v/F_m 比值变化的差异可能是由于藻的种类、培养条件的不同所引起的,有关这方面的问题还需要进一步研究。

此外,一些研究人员发现,将限制性营养盐添加到受此种营养盐限制的藻液中,几分钟之内叶绿素荧光参数会发生瞬时变化^[33],这种现象被称之为 NIFT 现象(Nutrient-Induced Fluorescence Transient)^[34]。而将非限制性营养盐或水加入到该藻液中,没有出现 NIFT 现象^[1,2],因此可以用限制性营养盐添加前后叶绿素荧光的瞬时变化(NIFT)来检测浮游植物的营养状况。常用的叶绿素荧光参数有 F_s (光适应条件下的稳态荧光), F_m (光适应条件下的最大荧光), F/F_m (PS 光化学能量转换的有效量子产量)等。Lippemeier 等^[12] 研究表明,将 N、P、Si 分别添加到缺乏 N、P、Si 的盐生杜氏藻和威氏海链藻中,在 1~30 min 之内,均出现了 NIFT 现象。添加 N 后, F/F_m 比值剧烈上升,添加 P、Si 后, F/F_m 比值迅速下降。Holland 等^[35] 向缺 P 的小球藻(*Chlorella emersonii*)和蓝藻(*Oscillatoria* sp.)中添加适量的 P 后,几分钟之内 F_s , F_m , F/F_m 比值均出现了明显的降低,而加入 N 或水则没有出现 NIFT 现象。Beardall 等^[1] 采集了 Lucerne 湖(P 限制)和 Zurich 湖(P 充足)的水样,发现只有 Lucerne 湖的水样在添加 P 后出现了 NIFT 现象。可见,利用 NIFT 现象可以在几分钟或几小时内迅速检测出浮游植物的营养状况,具有很好的发展前景。但目前国内外仅对几种藻类进行了初步研究,因此还需进行深入探讨。

3 展望

叶绿素荧光检测技术由于其具有快速、灵敏、操作简单、对细胞无损伤等优点,近年来受到越来越多的关注,是检测浮游植物营养盐限制最有发展前景的方法。但目前仍有许多理论和技术问题需要进行深入探讨:

(1) 在实验室培养条件下初步证明了此种方法的

可行性,今后应对不同的浮游植物种类、限制性营养盐种类、营养盐限制程度、培养条件、培养时期进行进一步研究,确定此法的应用范围,改进和完善叶绿素荧光技术在检测浮游植物营养盐限制研究中的应用。

(2) 进行混合藻培养,测定营养盐限制时叶绿素荧光参数的变化,处理混合样品中不同浮游植物种类受到不同营养盐限制的情况,例如,硅藻可能是 Si 限制,而绿藻可能是 N 或 P 限制^[2],以期把实验室结果应用于现场。

(3) 把叶绿素荧光技术应用到现场海域,检测天然海水营养盐的限制情况。

(4) 进一步扩大叶绿素荧光检测技术的应用领域,深入探讨其在赤潮的现场快速检测、营养盐浓度对浮游植物群落结构的影响等研究中的应用。

随着叶绿素荧光理论研究和检测技术的进一步发展,叶绿素荧光检测技术必将在浮游植物的研究中发挥越来越重要的作用。

参考文献:

- [1] Beardall J, Berman T, Phil H, *et al.* A comparison of methods for detecting phosphate limitation in microalgae[J]. *Aquatic Sciences*, 2001, 63: 107-121.
- [2] Beardall J, Young E, Simon R. Approaches for determining phytoplankton nutrient limitation[J]. *Aquatic Sciences*, 2001, 63: 44-69.
- [3] 韩博平,韩志国,付翔.藻类光合作用机理与模型[M].北京:科学出版社,2003. 58-70.
- [4] Parkhill J P, Mailliet G, Cullen J J. Fluorescence-based maximal quantum yield for PSII as a diagnostic of nutrient stress[J]. *Journal of Phycology*, 2001, 37: 517-529.
- [5] Schreiber U, Hormann H, Neubauer C, *et al.* Assessment of photosystem photochemical quantum yield by chlorophyll fluorescence quenching analysis[J]. *Australia Journal of Plant Physiology*, 1995, 22: 209-220.
- [6] Young E B, Beardall J. Photosynthetic function in *Dunaliella tertiolecta* (chlorophyta) during a nitrogen starvation and recovery cycle[J]. *Journal of Phycology*, 2003, 39: 897-905.
- [7] 尹翠玲.营养盐限制对 6 株微藻叶绿素荧光特性的影响[D].青岛:中国海洋大学,2006.
- [8] Steglich C, Behrenfeld M, Koblizek M, *et al.* Nitrogen deprivation strongly affects Photosystem II but not phycoerythrin level in the divinyl-chlorophyll b-containing cyanobacterium *Prochlorococcus marinus*[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2001, 1503: 341-349.
- [9] Cleveland J S, Perry M J. Quantum yield, relative specific absorption and fluorescence in nitrogen-limited *Chaetoceros gracilis*[J]. *Marine Biology*, 1987, 94: 489-497.
- [10] Geider R J, Roche J La, Greene R M, *et al.* Response of the photosynthetic apparatus of *Phaeodactylum tricorutum* (Bacillariophyceae) to nitrate phosphate or

- iron starvation[J]. **Journal of Phycology**, 1993, 29: 755-766.
- [11] Geider R J, Macintyre L, Graziano L M, *et al.* Responses of the photosynthetic apparatus of *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae) to nitrogen and phosphorus limitation[J]. **European Journal of Phycology**, 1998, 33: 315-332.
- [12] Lippemeier S, Hintze R, Vanselow K H, *et al.* In-line recording of PAM fluorescence of phytoplankton cultures as a new tool for studying effects of fluctuating nutrient supply on photosynthesis[J]. **European Journal of Phycology**, 2001, 36: 89-100.
- [13] Berges J A, Charlebois D O, Mauzerall D C, *et al.* Differential effects of nitrogen limitation on photosynthetic efficiency of photosystems I and II in microalgae [J]. **Plant Physiology**, 1996, 110: 689-696.
- [14] Fredeen A J, Raab T K, Rao I M, *et al.* Effects of phosphorus nutrition on photosynthesis in *Glycine max* (L.) [J]. **Merr Planta**, 1990, 181: 399-405.
- [15] Jacob J, Lawlor D W. Stomatal and mesophyll limitation of photosynthesis in phosphate deficient sunflower, maize and wheat plants[J]. **Journal of Experimental Botany**, 1991, 42: 1 003-1 011.
- [16] Jacob J, Lawlor D W. In vivo photosynthetic electron transport does not limit photosynthetic capacity in phosphate deficient sunflower and maize leaves [J]. **Plant Cell Environment**, 1993, 16: 785-795.
- [17] 陈屏昭, 陈顺方, 刘忠荣, 等. 缺 P 胁迫对温州蜜柑叶片光合作用的影响[J]. 云南农业大学学报, 2003, 18 (2): 158-162.
- [18] Lippemeier S, Frampton D M F, Blackburn S I, *et al.* Influence of phosphorus limitation on toxicity and photosynthesis of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) monitored by in-line detection of variable chlorophyll fluorescence[J]. **Journal of Phycology**, 2003, 38: 320-331.
- [19] Lippemeier S, Hartig P, Colijin F. Direct impact of silicate on the photosynthetic performance of the diatom *Thalassiosira weissflogii* assessed by on- and off-line PAM fluorescence measurements[J]. **Journal of Plankton Research**, 1999, 21: 269-283.
- [20] Roche J La, Geider R J, Graziano L M, *et al.* Introduction of specific proteins in eukaryotic algae grew under iron, phosphorus or nitrogen deficient conditions[J]. **Journal of Phycology**, 1993, 29: 767-777.
- [21] Gobler C J, Buck N J, Sieracki M E, *et al.* Nitrogen and silicon limitation of phytoplankton communities cross an urban estuary: The East River-Long Island Sound system[J]. **Estuarine Coastal and Shelf Science**, 2006, 68: 127-138.
- [22] Behrenfeld M J, Bale A J, Kolber Z S, *et al.* Confirmation of iron limitation of phytoplankton photosynthesis in the equatorial Pacific Ocean [J]. **Nature**, 1996, 383: 508-511.
- [23] Kolber Z S, Barber R T, Coale K H, *et al.* Iron limitation of phytoplankton photosynthesis in the equatorial Pacific Ocean[J]. **Nature**, 1994, 371: 145-149.
- [24] Boyd P W, Muggli D L, Varela D E, *et al.* In vitro iron enrichment experiments in the NE subarctic Pacific[J]. **Marine Ecology Progress Series**, 1996, 136: 179-193.
- [25] Boyd P, Berges J A, Harrison P J. In vitro enrichment experiments at iron-rich and poor sites in the NE subarctic Pacific[J]. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 1998, 227: 133-151.
- [26] Boyd P W, Roche J La, Call M, *et al.* The role of iron, light and silicate in control algal biomass in Sub-Antarctic waters SE of New Zealand[J]. **Journal of Geophysical Research Ocean**, 1999, 104: 13 395-13 408.
- [27] Geider R J, Greene R M, Kolber Z, *et al.* Fluorescence assessment of the maximum quantum efficiency of photosynthesis in the western North Atlantic[J]. **Deep-sea Research I**, 1993, 40(6): 1 205-1 224.
- [28] Vaillancourt R D, Sambrotto R N, Green S, *et al.* Phytoplankton biomass and photosynthetic competency in the summertime Mertz Glacier Region of East Antarctica[J]. **Deep-Sea Research II**, 2003, 50: 1 415-1 440.
- [29] Yentsch C S, Yentsch C M, Phinney D A, *et al.* The odyssey of new production[J]. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 2004, 300: 15-30.
- [30] Moore C M, Lucas M I, Sanders R, *et al.* Basin-scale variability of phytoplankton bio-optical characteristics in relation to bloom state and community structure in the Northeast Atlantic [J]. **Deep-Sea Research I**, 2005, 52: 401-419.
- [31] 王萌, 李瑞香, 朱明远, 等. 利用围隔实验研究赤潮过程中藻细胞荧光能力[J]. 海洋科学进展, 2006, 24 (4): 489-494.
- [32] Macintyre J G, Cullen J J, Cembella A D. Vertical migration, nutrition and toxicity in the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* [J]. **Marine Ecology Progress Series**, 1997, 148: 201-216.
- [33] Turpin D H, Weger H G. Steady-state chlorophyll was a fluorescence transient during ammonium assimilation by the N-limited green alga *Selenastrum minutum* [J]. **Plant Physiology**, 1988, 88: 97-101.
- [34] Wood M D, Oliver R L. Fluorescence transients in response to nutrient enrichment of nitrogen and phosphorus-limited *Microcystis aeruginosa* cultures and natural phytoplankton populations: a measure of nutrient limitation[J]. **Australian Journal of Plant Physiology**, 1995, 22: 331-340.
- [35] Holland D, Roberts S, Beardall J. Assessment of the nutrient status of phytoplankton: a comparison between conventional bioassays and nutrient-induced fluorescence transients (NIFTs) [J]. **Ecological Indicators**, 2004, 4: 149-159.