

利用 F_v/F_m 检测锥状施克里普藻 N 和 P 限制的局限

齐红菊, 王江涛*, 王昭玉

(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, 青岛 266100)

摘要: 通过测定缺 N 和缺 P 的锥状施克里普藻 (*Scrippsiella trochoidea*) 在分别添加充足的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 后, 光系统 II (PS II) 最大光化学量子产量 (F_v/F_m) 的变化, 来检验 F_v/F_m 能否用来检测锥状施克里普藻 N、P 限制的情况。实验表明, 锥状施克里普藻 分别在不加 N、P 元素的 f/2-Si 培养基培养过程中, 缺 N 组叶绿素 a (Chl a) 浓度先升高, 在原培养液 N 耗尽后快速下降; 缺 P 组 Chl a 开始时升高, 在原培养液 P 耗尽后缓慢下降。两组藻液 F_v/F_m 比值保持相对稳定, 短时间内未见明显降低。当分别向藻液中重新添加充足的 N 和 P 后, 缺 N 组藻液添加 N 后 Chl a 浓度 48h 内明显上升, 缺 P 组藻液添加 P 后 Chl a 浓度 48h 内没有明显变化, 两种培养液中 F_v/F_m 均未见明显升高。结果证明, 利用 F_v/F_m 不能够快速检测锥状施克里普藻 N、P 限制的情况, 该法在检测浮游植物营养盐胁迫时具有局限性。

关键词: 锥状施克里普藻; N 限制; P 限制; F_v/F_m

The limitation of maximal quantum yield of photosystem II for the detection of nitrogen limitation and phosphorus limitation of *Scrippsiella trochoidea*

QI Hongju, WANG Jiangtao*, WANG Zhaoyu

Key Laboratory of Marine Chemistry Theory and Technology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266100, China

Abstract: The effects of different nutrient supply on the maximal quantum yield of photosystem II (F_v/F_m) to *Scrippsiella trochoidea* in nitrate-starved and phosphorus-starved cultures were monitored in order to find whether it could be used to determine N and P limitation of *S. trochoidea*. The results showed that Chl a contents of N-starvation culture increased at first and then declined significantly after nitrate was exhausted, while Chl a contents of P-starvation culture increased initially and then declined slowly after phosphate was exhausted. F_v/F_m remained stable throughout the N- and P-starved incubation. When sufficient nitrogen and phosphorus were resupplied to N- and P-starvation cultures of *S. trochoidea* respectively, Chl a contents increased rapidly in 48 hours in N-starvation culture while it showed no obvious change in P-starvation culture. There was no measurable increase of F_v/F_m to nutrient addition in both of the two cultures. Our study demonstrates that F_v/F_m cannot be used for the detection of nitrogen limitation and phosphorus limitation of *S. trochoidea*. This method has limitations on the detection of nutrient stress for phytoplankton.

Key Words: *Scrippsiella trochoidea*; nitrogen limitation; phosphorus limitation; F_v/F_m

在海洋体系中, 测定浮游植物生物量、光合作用能力以及光合作用效率对于表征海洋初级生产具有重要意义。光合作用依赖光、温度和营养盐, 国内外众多学者在光照、温度对光合作用效率的影响等问题上取得了很多重要的研究成果^[1-4], 然而对于营养盐对浮游植物生长、生理的作用大家却有不同的观点^[5-7]。叶绿素荧光技术具有快速、灵敏、易行、对细胞无损伤等优点, 很多学者借助这种方法来研究营养盐对浮游植物光合作用效率的影响^[8-12]。叶绿素荧光分析中最常用的参数是 PS II 的最大光化学量子产量 F_v/F_m , 它是通过测定经

基金项目: 国际科技合作重点项目计划资助项目(2004DFA03600); 国家高科研究发展计划资助项目(2006AA09Z176)

收稿日期: 2009-02-26; 修订日期: 2009-04-27

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: jtwang@ouc.edu.cn

过充分暗适应的样品的最大荧光和最小荧光计算得到的。

海洋科学的研究中, F_v/F_m 受营养盐胁迫的影响已经得到广泛的认可。随着众多的能够测量活体荧光的仪器出现, F_v/F_m 已经被越来越多的用于检测各种营养盐的胁迫。Steglich 等^[13]研究结果表明, 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 2h 起开始下降。Beardall 等^[14]发现, 将 $\text{PO}_4\text{-P}$ 添加到受 P 限制的 4 种微藻中, 24h 后, 4 种微藻的 F_v/F_m 比值均显著增加。

然而, 有的学者研究发现, 利用测定 F_v/F_m 大小的方法来检测浮游植物是否受营养盐胁迫并不可靠。Cullen 等^[15]研究发现它对一种在氮限制下稳定生长的浅海硅藻不敏感; 同时, Macintyre 等^[16]发现, 当有毒甲藻塔玛亚历山大藻完全适应氮限制时, F_v/F_m 并没有降低; Kruskopf 等^[17]研究一种海链藻和球石藻时发现, 它们的 F_v/F_m 始终保持较高, 而与相对生长速率 μ_{norm} (营养盐限制程度) 之间没有明显的关系; Serodio 等^[18]的研究讨论了 F_v/F_m 昼夜间的不同, 认为在解释 F_v/F_m 值与营养盐水平间的关系时, 昼夜差异引入了更进一步的不确定性。这些均与 Yentsch 等^[19]提出的 F_v/F_m 确实可以用来表征营养盐限制产生了矛盾。在什么情况下可以利用 F_v/F_m 正确检测藻类的营养盐状况呢? 要正确回答这一问题还需要做大量的研究。

本文选取我国近海典型的有害赤潮生物锥状施克里普藻(*Scrippsiella trochoidea*), 分别在缺 N、P 的条件下培养数天后, 向其中添加充足的 N、P, 观察营养盐添加前后 F_v/F_m 的变化, 来检验 F_v/F_m 能否用来检测锥状施克里普藻 N、P 限制的情况, 以期为利用 F_v/F_m 进行营养盐限制的检测提供参考。

1 材料和方法

1.1 实验藻种及其保存

实验所用锥状施克里普藻(*Scrippsiella trochoidea*)藻种由中国海洋大学海洋污染生态学重点实验室提供。藻种在 f/2 改良配方培养基中扩大培养。

实验海水采用陈化海水。将其经孔径为 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 于 120℃ 高压灭菌 20min, 室温冷却后备用。

藻种培养温度为(21 ± 1)℃, 光照强度为 60 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光暗周期(L:D)为 12:12。静置培养, 每天摇动数次。

1.2 实验方法

1.2.1 锥状施克里普藻 N 限制实验

取营养盐充足的处于指数生长期的藻液置于离心管中, 以 2500 r·min⁻¹ 的速度离心 5min, 弃掉上清液, 加入适量体积的灭菌陈化海水, 再离心洗涤, 如此 3 次。最后加入适量灭菌陈化海水, 使藻种重悬。

取适量重悬藻液接种于不含 N 元素的 f/2-Si 培养基中培养 19d。每隔 24h 取样测定 F_v/F_m 和 Chl a 浓度。同时取样, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 测定滤液中 $\text{NO}_3\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4\text{-P}$ 浓度。培养结束后, 将藻液平均分成 3 份:(1)加 N 组, 添加 f/2-Si 营养液浓度的 $\text{NO}_3\text{-N}$; (2)加 P 组, 添加 f/2-Si 营养液浓度的 $\text{PO}_4\text{-P}$; (3)加水组, 添加与(1)、(2)操作中体积相同的灭菌陈化海水。定时测定上述参数, 共测 48h。

1.2.2 锥状施克里普藻 P 限制实验

藻液的洗涤方式与 N 限制实验相同。

取适量重悬藻液接种于不含 P 元素的 f/2-Si 培养基中培养 16d。每隔 24h 取样测定 F_v/F_m 和 Chl a 含量。同时取样, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 测定滤液中 $\text{NO}_3\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4\text{-P}$ 浓度。培养结束后, 将藻液平均分成 3 份:(1)加 P 组, 添加 f/2-Si 营养液浓度的 $\text{PO}_4\text{-P}$; (2)加 N 组, 添加 f/2-Si 营养液浓度的 $\text{NO}_3\text{-N}$; (3)加水组, 添加与(1)、(2)操作中体积相同的灭菌陈化海水。定时测定上述参数, 共测 48h。

1.3 测定方法

1.3.1 F_v/F_m

由 bbe 藻类分析仪(bbe cuvette fluorometer, bbe Moldaenke, Germany)直接测定。藻液经充分暗适应后, 用弱光照射, 可测初始荧光(F_0); 再用强饱和光激发, 测得最大荧光(F_m)。 $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ 。

1.3.2 Chl a 浓度

通过测量叶绿素荧光强度确定 Chl a 浓度。直接将藻液放入 bbe 藻类分析仪中测定。

1.3.3 营养盐浓度

采用 QuAAstro 连续流动分析仪 (Bran + Luebbe, Germany) 以分光光度法测定溶解无机态营养盐 $\text{NO}_3\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 的浓度, 详见表 1。

表 1 营养盐分析方法、检测限和测量精度

Table 1 The method, detection limit and precision of nutrient analysis

营养盐形态 Nutrient form	分析方法 Nutrient analysis method	检测限 Detection limit /($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	测量精度 Precision/%
$\text{NO}_3\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N}$	Cd-Cu 还原法 Cadmium reduction method	0.02	99.9
$\text{PO}_4\text{-P}$	磷钼蓝法 Molybdate reaction method	0.02	99.8

2 结果

2.1 锥状施克里普藻 N 限制实验

2.1.1 锥状施克里普藻缺 N 培养

锥状施克里普藻在缺 N 的 f/2-Si 培养基中培养的情况见图 1。从图 1 可以看出, 培养至第 4 天时, 藻液中 N 已基本耗尽, P 始终处于充足状态。 $\text{PO}_4\text{-P}$ 的浓度 0—1d 快速降低, N 耗尽后藻对 P 的需求大大减少, $\text{PO}_4\text{-P}$ 浓度缓慢下降。整个实验过程中 F_v/F_m 始终保持营养盐充足时的稳定的高值, 在 0.57 ± 0.01 内波动。Chl a 的浓度第 0—5 天逐渐增大, 之后随着 N 的耗尽, 浓度逐渐降低。

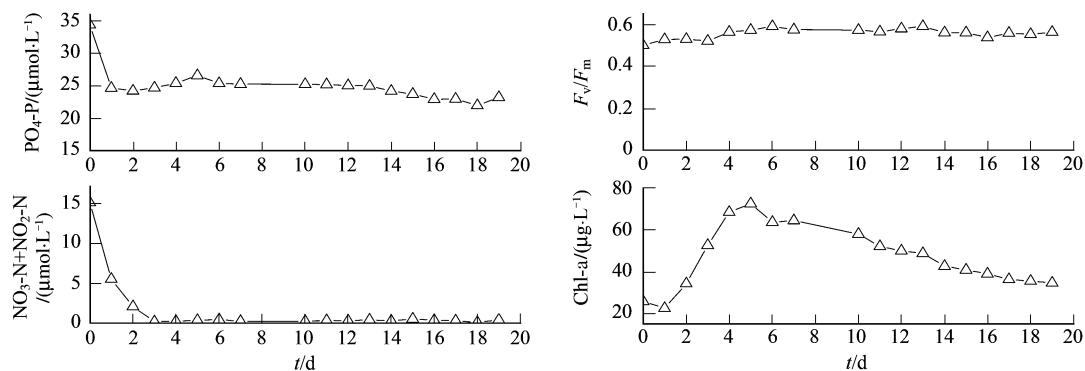


图 1 氮限制培养条件下锥状施克里普藻的表现

Fig. 1 Changes during nitrogen starvation in *Scrippsiella trochoidea*

2.1.2 锥状施克里普藻加 N 恢复

图 2 显示, 当向藻液中重新添加充足的 N 源后, 藻对 N 迅速吸收, N 的浓度降低较快。加 N 培养 0—48h 内, F_v/F_m 没有明显变化, 实验结束时未能恢复至营养盐充足时的水平。加 N 组 Chl a 的浓度持续增加, 48h 时增加到原来的 4.96 倍。加 P 组、加水组的藻液, F_v/F_m 在 0—48h 内也没有发现明显改变; Chl a 的浓度缓慢降低, 两组差异不显著 ($P > 0.05$)。加 N 组藻液中 P 的消耗量明显高于其它两组, 这是由于该组添加的 N 促进了锥状施克里普藻的生长, 从而促进了锥状施克里普藻对 P 的吸收。

2.2 锥状施克里普藻 P 限制实验

2.2.1 锥状施克里普藻缺 P 培养

锥状施克里普藻在缺 P 的 f/2-Si 培养基中培养的情况见图 3(低于检测线的 $\text{PO}_4\text{-P}$ 浓度以 $0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 代替)。从图 3 可以看出, 实验开始藻液中 P 浓度迅速降低, 培养至第 2 天时, P 达检测线以下, N 始终保持充足。 F_v/F_m 始终相对较高 (0.6), 培养至第 12 天时, 降低了 0.02, 培养至第 16 天时, 降低了 0.06。Chl a 的浓

度0—8d增加较快,8—13d缓慢增加,13d以后开始降低直至实验结束。

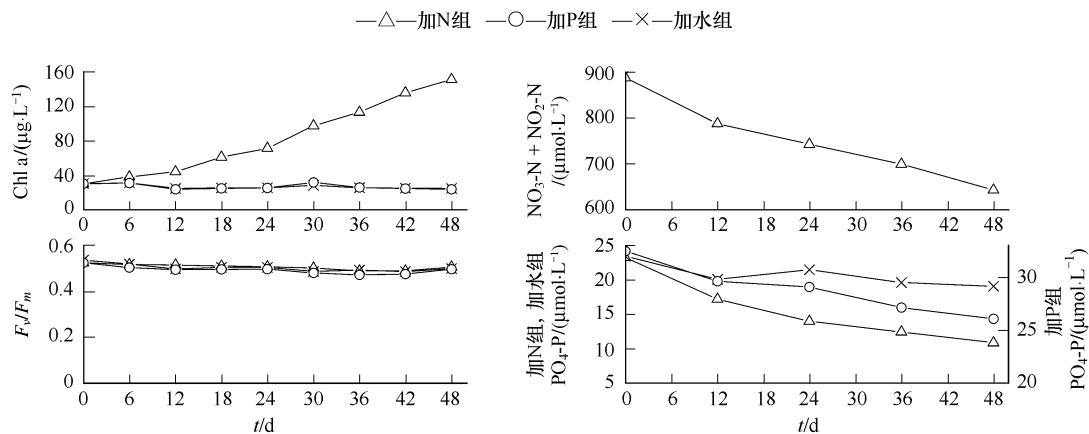


图2 氮限制培养后的锥状施克里普藻添加营养盐后的表现

Fig. 2 Changes after nutrient addition to *Scrippsiella trochoidea* of N-starvation culture

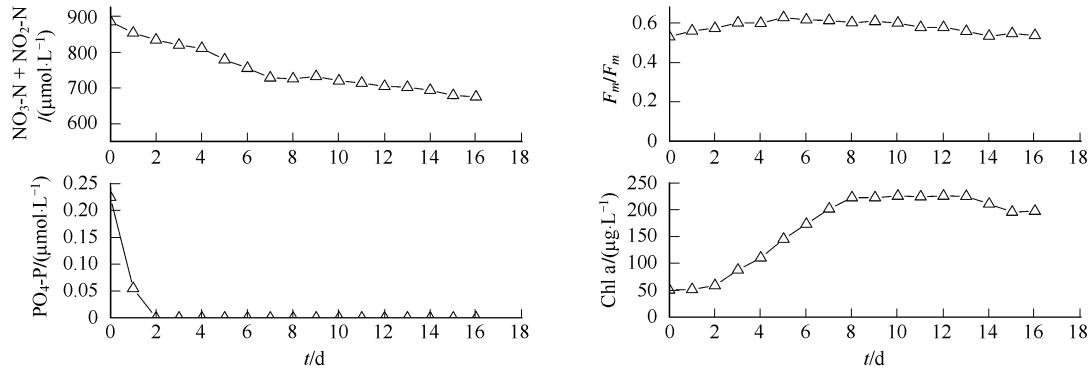


图3 磷限制培养条件下锥状施克里普藻的表现

Fig. 3 Changes during phosphorus starvation in *Scrippsiella trochoidea*

2.2.2 锥状施克里普藻加P恢复

图4显示,当向藻液中重新添加充足的P后,0—12h内,藻对P迅速吸收,P的浓度降低较快,12h之后缓慢下降。加P培养0—48h内,F_v/F_m没有明显变化,实验结束时未能恢复至营养盐充足时的水平。加P组Chl a的浓度在48h内比较稳定,未见明显上升。加N组、加水组的藻液,F_v/F_m在0—48h内变化不大($P > 0.05$),Chl a的浓度逐渐降低。加P组N的消耗量明显高于其他两组,加N组、加水组的藻对N吸收非常缓慢,N浓度未见明显降低。

3 讨论

3.1 N、P添加前后锥状施克里普藻生长的变化

营养盐影响藻类光合作用和生理代谢活动,进而影响其生长繁殖,因此营养盐是藻类生存的重要环境因素。甲藻有对不同资源吸收和存储的策略,这些资源包括有机氮、有机磷、维生素、痕量元素和其它生长因子^[20]。锥状施克里普藻在其生活史的一段时期内,能形成休眠孢囊,以此来抵御不良环境。当环境中营养盐不足时,锥状施克里普藻就要进行有性生殖而形成孢囊^[21]。一个孢囊的形成需要消耗两个营养细胞,因此孢囊的大量形成会有效地削减营养细胞的数量。Anderson 和 Lindquist 研究表明,藻细胞在形成孢囊时需要吸收充足的N和P^[22]。由于孢囊的新陈代谢很低,细胞内许多蛋白质和其它巨大的分子都可看作分解异化或不起作用,所以这些N和P对于维持孢囊的生命活动以及条件适宜时孢囊的萌发具有重要意义^[23]。

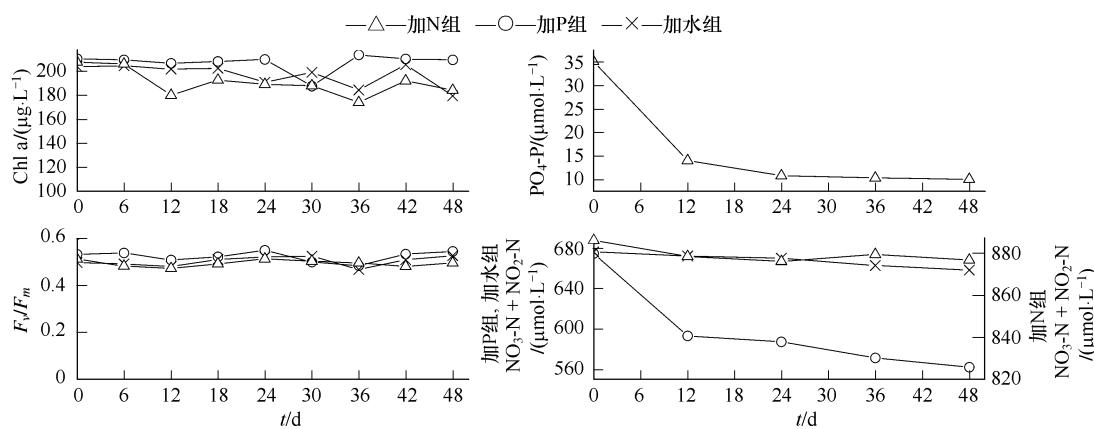


图 4 磷限制培养后的锥状施克里普藻添加营养盐后的表现

Fig. 4 Changes after nutrient addition to *Scrippsiella trochoidea* of P-starvation culture

锥状施克里普藻 N 限制实验中,开始藻利用培养液中少量的 N 进行生长繁殖,Chl a 的浓度持续增加。培养至第 4 天时,培养液中 N 耗尽,由于藻体内积累了一定量的 N,藻可以利用体内储存的这部分 N 维持一段时间,Chl a 的浓度继续增加。培养至第 5 天(N 耗尽后的第 2 天)时,锥状施克里普藻孢囊大量形成,Chl a 的浓度开始下降。当向培养液中重新加入 N 后,12h 内便观察到 N 和 P 的显著降低。孢囊在营养盐充足的条件下萌发,藻细胞进行正常的生长繁殖,Chl a 的浓度迅速升高,48h 时已达到原来的 4.96 倍。P 限制实验中,0—8d Chl a 的浓度增加较快,8—13d 缓慢增加。培养至第 13 天(P 耗尽后的第 11 天)时 Chl a 的浓度开始降低。与 N 限制实验相比,Chl a 的下降较 P 的耗尽有一个明显的滞后现象。锥状施克里普藻 Chl a 的浓度对 N、P 这种反应的不同可能是由该藻对 N 和 P 不同的储存和利用方式、对其不同的生理调控机制决定的。Anderson 等研究发现,只有当细胞外营养盐已经耗尽,细胞内限制性营养盐的源已经或接近生存线时,有性生殖才能成为占支配地位的生殖方式;孢囊的形成更决定于胞内 P 的耗尽而不是胞外 PO_4^{3-} 的提供情况^[24]。Lirdwitayaprasit 等^[25]研究表明,当环境中 P 不足引发孢囊形成时,藻体内的含磷化合物 ATP 就会被分解利用,然而当营养盐充足孢囊萌发时 ATP 又会迅速增加。Sakshaug 等^[26]发现,当 P 限制时,藻体内的多磷酸盐就会消失。这说明锥状施克里普藻在应对环境中 P 的缺乏时有一套很好的策略。与 N 限制实验不同,当向培养液中重新加入 P 后,48h 内没有发现 Chl a 浓度的明显上升,而第 10 天时上升至 $260.3 \mu\text{mol L}^{-1}$,为原来的 1.24 倍。这或许是因为细胞吸收的 P 首先要被用来合成生命活动所需要的 ATP 等原来被分解的众多含磷化合物之后才能进行生长和繁殖。甲藻细胞内 N、P 的化学存在形态以及吸收利用机理是个非常复杂的问题,有待于做进一步的探索和发现。甲藻营养方式的复杂性给甲藻赤潮的预测预报带来很多困难,所以开展各种甲藻的营养动力学研究具有重大意义。

3.2 利用 F_v/F_m 检测锥状施克里普藻 N 和 P 限制的局限

当锥状施克里普藻在缺 N 的环境中培养时, F_v/F_m 在 0.57 ± 0.01 内波动。重新添加 N 后, F_v/F_m 48h 内变化不明显,未能恢复至营养盐充足时的水平。当该藻在缺 P 的环境中培养时,短时间内没有观察到 F_v/F_m 的明显降低。重新添加 P 后,48h 内也未能恢复。因此,锥状施克里普藻在缺氮和缺磷的环境中培养时, F_v/F_m 始终保持较高并且稳定。对于该藻来说, F_v/F_m 对营养盐限制不再敏感,不可以利用添加营养盐前后 F_v/F_m 比值在短时间内的变化来检测锥状施克里普藻营养盐限制的情况。

F_v/F_m 能否可以用来检测浮游植物的营养盐限制?对于这个问题不同学者的研究有不同的结论。这些差别可能是由测量 F_v/F_m 时所用的仪器、藻的种类及其培养条件的不同所引起的^[27]。然而,Geider 等^[10]的研究表明使用 Pump 和 Probe 荧光计(饱和光激发)和 Turner 荧光计(DCMU 方法)测量的 F_v/F_m 结果有很好的相关性。Parkhill 等^[27]使用 PAM(饱和光激发)和传统荧光方法(DCMU 方法)时也获得了相关性显著的

F_v/F_m 的测量结果。同样,使用 bbe 仪器(饱和光激发)研究锥状施克里普藻营养盐限制得出的结果与 Kruskopf 等^[17]使用 PAM 和 PEA (Photosynthesis Efficiency Analyzer)(饱和光激发)研究该藻营养盐限制情况下的 F_v/F_m 时得到的结果也是相同的。所以,不同仪器和方法测量 F_v/F_m 比值时所得结果是一致的。因此我们认为,这些研究结论之间的重大差异并不是由仪器或测量方法的不同造成的,而是跟藻的种类及其培养条件有关系。

F_v/F_m 反映 PS II 反应中心的内禀光能转换效率。PS II 系统为具有多亚基的蛋白复合体,除含有反应中心和与原初电荷分离有关的电子传递组分外,还含有 20 多个蛋白亚基^[28],因此,细胞能够吸收充足的营养元素进行蛋白质的合成对于维持 PS II 复合体的组装和结构稳定性,保证光合作用的正常进行具有重要意义。根据营养元素在藻细胞内生理功能的不同,可将营养元素在细胞内的存放位置划分为 3 部分:结构部分、功能部分和储存部分,藻类细胞的营养储存现象有利于藻类应对外界环境的变化,度过营养盐缺乏时期^[29]。甲藻具有较强的营养元素储备能力,如吕颂辉等研究发现,东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)和链状亚历山大藻(*Alexandrium catenella*)N、P 储存能力明显高于中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)和尖刺拟菱形藻(*P. pungens*)^[30]。Young 和 Beardall^[31]研究发现,盐生杜氏藻(*Dunaliella tertiolecta*)光合作用反应中心的活性与细胞内的蛋白质关系密切。当盐生杜氏藻在缺 N 的条件下培养时, F_v/F_m 比值从 20h 开始明显降低,而细胞总蛋白质含量从 10h 开始显著降低;重新添加 N 源后, F_v/F_m 在 30min 时明显增加,细胞分裂却在 12h 才开始进行,这是由于细胞在进行分裂前首先要合成 N 缺乏时损失的结构和功能蛋白,之后才能进行正常的繁殖,进而合成储存蛋白储备 N;若向培养基中加入抑制剂使整个蛋白质系统被抑制时, F_v/F_m 直线下降并且不可恢复。研究表明,三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum*)^[32]、假微型海链藻(*Thalassiosira pseudonana*)^[27]和纤细角毛藻(*Chaetoceros gracilis*)^[33]等硅藻 N 限制培养时 F_v/F_m 短时间内显著降低,而本研究的甲藻中的锥状施克里普藻(*Scrippsiella trochoidea*)N、P 限制时 F_v/F_m 在很长一段时间内仍能保持稳定。硅藻与甲藻间的这种差异或许是由藻细胞对氮、磷营养元素的储存能力,以及利用胞内储存的氮、磷营养元素进行生存的潜力不同造成的。

因此,不同藻种对营养盐胁迫的适应能力是不同的,它们的 F_v/F_m 对营养盐限制的敏感程度也是不一样的,利用添加营养盐前后 F_v/F_m 比值的变化来检测浮游植物的营养盐限制并不是在所有的条件下都适用。如何发挥 F_v/F_m 方法在海洋环境监测中作用尚待解决。

4 结论

(1) 实验测定了缺 N 和缺 P 的锥状施克里普藻(*Scrippsiella trochoidea*)分别添加充足的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 前后 PS II 最大光化学量子产量(F_v/F_m)的变化,结果表明,锥状施克里普藻分别在不加 N、P 元素的 f/2-Si 培养基培养过程中, F_v/F_m 比值保持相对稳定,短时间内未见明显降低,添加充足的营养盐后也未见升高。因此,利用 F_v/F_m 来检测锥状施克里普藻营养盐限制是有局限的。

(2) 利用添加营养盐前后 F_v/F_m 比值的变化来检测浮游植物的营养盐限制并不是在所有的条件下都适用。

References:

- [1] Jassby A D, Platt T. Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. *Limnology Oceanography*, 1976, 21:540-547.
- [2] Langdon C. On the causes of interspecific differences in the growth-irradiance relationship for phytoplankton. II. A general review. *Journal of Plankton Research*, 1988, 10:1291-1312.
- [3] Davison I R. Environmental effects on algal photosynthesis: temperature. *Journal of Phycology*, 1991, 27:2-8.
- [4] Eppley R W. Temperature and phytoplankton growth in the sea. *Fishery Bulletin*, 1972, 70:1063-1085.
- [5] Dugdale R C. Nutrient limitation in the sea: Dynamics, identification and significance. *Limnology Oceanography*, 1967, 12:685-695.
- [6] Levasseur M, Thompson P A, Harrison P J. Physiological acclimation of marine phytoplankton to different nitrogen sources. *Journal of Phycology*, 1993, 29:587-595.
- [7] Goldman J C. Physiological processes, nutrient availability, and the concept of relative growth rate in marine phytoplankton ecology // Falkowski, P.

- G. ed. Primary Productivity in the Sea. New York: Plenum Press, 1980: 179-194.
- [8] Schreiber U. Detection of rapid induction kinetics with a new type of high frequency modulated chlorophyll fluorometer. *Photosynthesis Research*, 1986, 9: 261-272.
- [9] Genty B, Briantais J M, Baker N R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1989, 990: 87-92.
- [10] Geider R J, Greene R M, Kolber Z, Macintyre H L, Falkowski P G. Fluorescence assessment of the maximum quantum efficiency of photosynthesis in the western North Atlantic. *Deep Sea Research*, 1993, 40: 1205-1224.
- [11] Kolber Z S, Falkowski P G. Use of active fluorescence to estimate phytoplankton photosynthesis in situ. *Limnology Oceanography*, 1993, 38: 1646-1665.
- [12] Kolber Z S, Zehr J, Falkowski P G. Effects of growth irradiance and nitrogen limitation on photosynthetic energy conversion in photosystem II. *Plant Physiology*, 1988, 88: 72-79.
- [13] Steglich C, Behrenfeld M, Koblizek M, Claustre H, Penno S, Prasil O, Partensky F, Hess W R. Nitrogen deprivation strongly affects Photosystem II but not phycoerythrin level in the divinyl-chlorophyll b-containing cyanobacterium *Prochlorococcus marinus*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2001, 1503: 341-349.
- [14] Beardall J, Berman T, Phil H, Kadiri M O, Light B R, Patterson Roberts G, Sulzberger B, Sahan E, Uehlinger U, Wood B. A comparison of methods for detection of phosphate limitation in microalgae. *Aquatic Sciences*, 2001, 63: 107-121.
- [15] Cullen J J, Yang X, MacIntyre H L. Nutrient limitation of marine photosynthesis//Falkowski, P. G. Woodhead, A. D. eds. Primary Productivity and Biogeochemical Cycles in the Sea. New York: Plenum Press, 1992: 69-88.
- [16] Macintyre J G, Cullen J J, Cembella A D. Vertical migration, nutrition and toxicity in the dinoflagellate *Alexandrium tamarensis*. *Marine Ecology Progress Series*, 1997, 148: 201-216.
- [17] Mikaela Kruskopf, Kevin J. Flynn. Chlorophyll content and fluorescence responses cannot be used to gauge reliably phytoplankton biomass, nutrient status or growth rate. *New Phytologist*, 2005, 169: 525-536.
- [18] Serodio J, Vieira S, Cruz S, Barroso F. Short-term variability in the photosynthetic activity of microphytobenthos as detected by measuring rapid light curves using variable fluorescence. *Marine Biology*, 2005, 146: 903-914.
- [19] Yentsch C S, Yentsch C M, Phinney D A, Lapointe B E, Yentsch S F W. The odyssey of new production. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2004, 300: 15-30.
- [20] Sun J. Pyrophyta//Qian S B, Liu D Y, Sun J eds. Algaeography. Qingdao: China Ocean University Press, 2005: 225-226.
- [21] Binder B J, Anderson D M. Physiological and environmental control of germination in *Scrippsiella trochoidea* (Dinophyceae) resting cysts. *Journal of Phycology*, 1987, 23: 99-107.
- [22] Anderson D M, Lindquist N L. Time-course measurements of phosphorus depletion and cyst formation in the dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis* Lebour. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1985, 86: 1-13.
- [23] Binder B J, Anderson D M. Biochemical composition and metabolic activity of *Scrippsiella trochoidea* (Dinophyceae) resting cysts. *Journal of Phycology*, 1990, 26: 289-298.
- [24] Anderson D M, Coats D W, Tyler M A. Encystment of the dinoflagellate *Gyrodinium uncatenatum*: temperature and nutrient effects. *Journal of Phycology*, 1985, 21: 200-206.
- [25] Lirdwitayaprasit T, Okaichi T, Montani S, Ochi T, Anderson D M. Changes in cell chemical composition during the life cycle of *Scrippsiella trochoidea* (Dinophyceae). *Journal of Phycology*, 1990, 26: 299-306.
- [26] Sakshaug E, Graneli E, Elbrachter M, Kzyser H. Chemical composition and alkaline phosphatase activity of nutrient-saturated and P-deficient cells of four marine dinoflagellates. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1984, 77: 241-254.
- [27] Parkhill J-P, Maillet G, Cullen J J. Fluorescence-based maximal quantum yield for PSII as a diagnostic of nutrient stress. *Journal of Phycology*, 2001, 37: 517-529.
- [28] Han B P, Han Z G, Fu X. The basic principle of photosynthesis//Han B P, Han Z G, Fu X eds. Algal photosynthesis: mechanisms and models. Beijing: Science Press, 2003: 27-30.
- [29] Fuhs G W. Phosphorus content and rate of growth in the diatom *Cyclotella nana* and *Thalassiosira fluviatilis*. *Journal of Phycology*, 1969, 5: 312-321.
- [30] Lu S H, Li Y. Nutritional storage ability of four harmful algae from the East China Sea. *The Chinese Journal of Process Engineering*, 2006, 6(3): 439-444.
- [31] Young E B, Beardall J. Photosynthetic function in *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyta) during a nitrogen starvation and recovery cycle. *Journal of Phycology*, 2003, 39: 897-905.
- [32] Geider R J, Roche J L, Greene R M, Olaizola M. Response of the photosynthetic apparatus of *Phaeodactylum tricornutum* (bacillariophyceae) to nitrate, phosphate, or iron starvation. *Journal of Phycology*, 1993, 29: 755-766.
- [33] Yin C L, Liang Y, Feng L X, Cao C H. Effects of different nitrogen concentration on the chlorophyll fluorescence and growth of *Dunaliella salina* and *Chaetoceros gracilis*. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2007, 1: 101-110.

参考文献:

- [21] 孙军. 甲藻门//钱树本, 刘东艳, 孙军主编. 海藻学. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2005: 225-226.
- [28] 韩博平, 韩志国, 付翔. 光合作用基本原理//韩博平, 韩志国, 付翔主编. 藻类光合作用机理与模型. 北京: 科学出版社, 2003: 27-30.
- [30] 吕颂辉, 李英. 我国东海4种赤潮藻的细胞氮磷营养储存能力对比. *过程工程学报*, 2006, 6(3): 439-444.
- [33] 尹翠玲, 梁英, 冯力霞, 曹春晖. 氮浓度对盐生杜氏藻和纤细角毛藻叶绿素荧光特性及生长的影响. *海洋湖沼通报*, 2007, 1: 101-110.