

# 基于荧光动力学参数的浮游植物有效光合反应中心浓度分析

陈双<sup>1,2,3</sup>, 殷高方<sup>2,3</sup>, 赵南京<sup>2,3</sup>, 甘婷婷<sup>2,3</sup>, 张小玲<sup>1,2,3</sup>,  
覃志松<sup>1,2,3,4</sup>, 石朝毅<sup>3,5</sup>, 刘建国<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>中国科学技术大学环境科学与光电技术学院, 安徽 合肥 230026;

<sup>2</sup>中国科学院安徽光学精密机械研究所中国科学院环境光学与技术重点实验室, 安徽 合肥 230031;

<sup>3</sup>中国科学院安徽光学精密机械研究所安徽省环境光学监测技术重点实验室, 安徽 合肥 230031;

<sup>4</sup>桂林电子科技大学计算机与信息学院, 广西 桂林 541004;

<sup>5</sup>合肥学院电子工程系, 安徽 合肥 230601

**摘要** 浮游植物有效光合反应中心浓度与其生长环境、生理状态密切相关, 文中以生物膜能流理论为基础, 基于初始荧光效率( $F_0$ )和功能吸收截面( $\sigma_{\text{PSII}}$ )的荧光动力学参数研究了浮游植物有效光合反应中心浓度分析方法。利用该方法对不同生长条件下的蛋白核小球藻进行了测试, 结果表明: 正常生理状态下, 荧光动力学参数法与同化系数法分析结果具有良好的一致性, 相关系数  $R^2$  达到 0.999; 非正常生理状态下, 荧光动力学参数法较同化系数法更能准确反映浮游植物光合活性( $F_v/F_m$ )和光合单元尺寸( $n_{\text{PSII}}$ )引起的有效光合反应中心浓度的变化; 在短期胁迫条件下, 荧光动力学参数法分析结果与  $F_v/F_m$  相关系数  $R^2$  可达 0.920; 在长期光照胁迫条件下的分析结果也能反映光照变化引起的浮游植物  $n_{\text{PSII}}$  变化信息, 且与已有研究成果相符。研究结果为浮游植物有效光合反应中心浓度的准确测量提供了一种新方法。

**关键词** 生物光学; 浮游植物; 荧光动力学参数; 有效光合反应中心浓度; 生物能量流理论

中图分类号 X834; S963.21+3

文献标识码 A

doi: 10.3788/AOS201838.0630004

## Analysis of Phytoplankton Concentration of Functional Reaction Centers Based on Fluorescence Dynamics Parameters

Chen Shuang<sup>1,2,3</sup>, Yin Gaofang<sup>2,3</sup>, Zhao Nanjing<sup>2,3</sup>, Gan Tingting<sup>2,3</sup>,  
Zhang Xiaoling<sup>1,2,3</sup>, Qin Zhisong<sup>1,2,3,4</sup>, Shi Chaoyi<sup>3,5</sup>, Liu Jianguo<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Environmental Science and Optoelectronics, University of Science and Technology of China, Hefei, Anhui 230026, China;*

<sup>2</sup>*Key Laboratory of Environmental Optics and Technology, Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Hefei, Anhui 230031, China;*

<sup>3</sup>*Key Laboratory of Optical Monitoring Technology for Environment, Anhui Province, Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Hefei, Anhui 230031, China;*

<sup>4</sup>*School of Computer and Information Security, Guilin University of Electronic Technology, Guilin, Guangxi 541004, China;*

<sup>5</sup>*Department of Electronic Engineering, Hefei University, Hefei, Anhui 230601, China*

**Abstract** Phytoplankton concentration of functional reaction center is closely related to its growth environment and

收稿日期: 2017-10-23; 收到修改稿日期: 2017-11-17

基金项目: 海洋安全保障项目(2016YFC1400600)、青岛海洋科学与技术国家实验室开放基金(QNLM2016ORP0312)、国家自然科学基金(31400317)、安徽省自然科学基金(1708085QD87)

作者简介: 陈双(1992—), 女, 硕士研究生, 主要从事海洋浮游植物初级生产力实验研究。E-mail: schen@aiofm.ac.cn

导师简介: 赵南京(1976—), 男, 博士, 研究员, 主要从事环境污染光学与光谱学监测新技术与方法研究。

E-mail: njzhao@aiofm.ac.cn(通信联系人)

physiological state. A new method is used to analyze the phytoplankton concentration of functional reaction center based on the biological energy flow theory, in other words, based on the fluorescence kinetic parameters such as initial fluorescence efficiency ( $F_0$ ) and function absorption cross section ( $\sigma_{PSII}$ ) is presented in this paper. The fluorescence parameters of *Chlorella pyrenoidosa* are measured under different conditions. The results show that there is a good agreement between the result of fluorescence kinetic parameter method and that of assimilation coefficient method under normal physiological conditions, and the correlation coefficient is 0.999. Compared with the assimilation coefficient method, the fluorescence kinetic parameter method is more accurate to analyze the changes in phytoplankton concentration of functional reaction center induced by photosynthetic activity ( $F_v/F_m$ ) and photosynthetic unit sizes ( $n_{PSII}$ ) under abnormal physiological conditions. The phytoplankton concentration of functional reaction center obtained by the fluorescence kinetic parameter method is correlated with  $F_v/F_m$ , and the correlation coefficient is 0.920 under the short-term stress condition. The changes of  $n_{PSII}$  caused by light can be measured by the fluorescence kinetic parameter method under the long-term light stress condition, which are consistent with the existing research results. This new method can accurately measure phytoplankton concentration of functional reaction center.

**Key words** biotechnology; phytoplankton; fluorescence kinetic parameter; concentration of functional reaction centers; biological energy flow theory

**OCIS codes** 300.2530; 350.1820; 210.4770

## 1 引 言

浮游植物是生态系统中最主要的初级生产者,其初级生产力占全球总初级生产力的45%以上,是生态系统物质循环和能量流动的基础环节<sup>[1-2]</sup>,准确评估浮游植物初级生产力具有重要的科学意义<sup>[3]</sup>。

初级生产力是指浮游植物通过光合作用合成有机物的速率<sup>[4]</sup>,其基本原理是捕光色素捕获光能后传递至光合反应中心进行一系列物理化学反应。其中只有具备活性的反应中心才能获取能量,并向前传递,推动光化学反应过程,因而有效光合反应中心浓度[RCII]是衡量初级生产力的关键要素。

自 Kolber 等<sup>[5]</sup>提出光合单元尺寸( $n_{PSII}$ )是常数以来,有效光合反应中心浓度均是通过反应中心色素叶绿素 a 的浓度[CHL a]并利用固定系数同化得到的,如 Boyd 等<sup>[6]</sup>直接把参数[CHL a]假设为参数[RCII]代入到初级生产力计算公式中,以此来比较放射性碳示踪法和 P&P 法测量浮游植物初级生产力结果的一致性关系; Suggett 等<sup>[7]</sup>做了同样的假设,研究了北大西洋春汛时期快速光脉冲激发荧光仪(FRR)与<sup>14</sup>C、<sup>18</sup>O 等传统方法测量浮游植物初级生产力结果的一致性关系。然而,文献[8-10]的研究表明,当藻种和生长环境(光照强度、营养盐)不同时, $n_{PSII}$ 的变化范围为0.001~0.1。此外,在海洋初级生产力模型的研究中,Falkowski 等<sup>[11]</sup>认为参数[RCII]还取决于最大光化学效率  $F_v/F_m$  ( $F_v$ 为暗适应条件下的最大可变荧光产率,  $F_v = F_m - F_0$ ,  $F_m$ 为 PSII 的全部反应中心都处于关闭状态的最大荧光产率,  $F_0$ 为暗适应条件下 PSII 的全部反应中心都处

于开放状态的初始荧光产率),即具备活性的有效光合反应中心比例,并提出浮游植物的[RCII]取决于光合单元尺寸  $n_{PSII}$ 、最大光化学效率  $F_v/F_m$  和叶绿素 a 的质量浓度[CHL a]。

自然水体中不同种类的浮游植物并存,生长环境复杂, $n_{PSII}$  和  $F_v/F_m$  具有很大的不确定性<sup>[12]</sup>,尤其是当藻类的生理状态受到胁迫时,利用叶绿素 a 的浓度同化获得的有效反应浓度存在较大误差。本文以生物膜能流理论为基础,研究了基于荧光动力学参数的浮游植物有效光合反应中心浓度的分析方法,并以实验室培养的蛋白核小球藻为研究对象,验证了不同条件下荧光动力学法分析浮游植物有效光合反应中心浓度的有效性。

## 2 分析原理

浮游植物光合作用能流过程如图 1 所示。CHL 是捕光色素的简写,吸收光子后跃迁到激发态 CHL\*。P680 是 PSII 的反应中心叶绿素 a,以二聚体或四聚体形式存在,吸收光子之后即跃迁到其激发态 P680<sup>+</sup>,释放出一个电子并向前传递。Q<sub>A</sub>是一个紧密结合在 D1 蛋白上的质醌分子,是 PSII 的初级电子受体,每次可以接收一个从 P680<sup>+</sup> 传过来的电子。Q<sub>B</sub>是一个与 D2 蛋白松散结合的质醌分子,它可以接收 2 个由 Q<sub>A</sub> 传递过来的电子,结合 2 个质子后变为可以在类囊体膜中移动的 PQ。PQ 携带的电子经细胞色素 Cyt b6/f、质蓝素 PC 传递至 PSI 反应中心叶绿素 a 分子 P700,继续向后传递至铁氧还原蛋白 Fd, Fd 是一种可移动的铁-硫蛋白。Z 是一个特殊的酪氨酸分子, S<sub>0</sub> → S<sub>3</sub> 指 P680 产生的正电荷与裂解

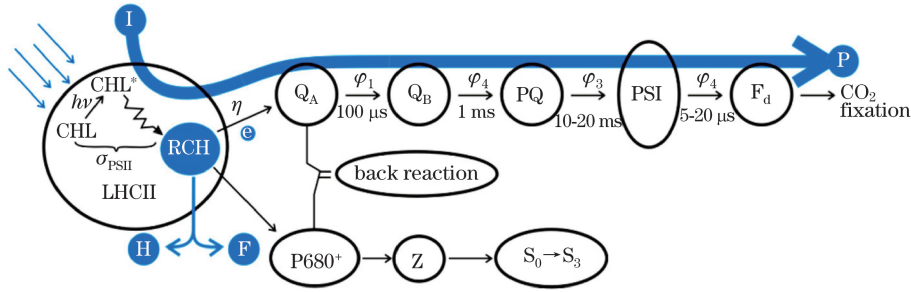


图 1 浮游植物光合作用能流过程示意图

Fig. 1 Energy flow schematic of phytoplankton photosynthetic process

水所需的 4 个正电荷偶联起来的 S 态循环。活体细胞受外界光照 I 激发,捕光色素(LHCII)吸收光能,激发反应中心色素叶绿素 a,受激叶绿素 a 分子的绝大部分能量在去激过程中用于光化学反应 P,少数能量以热能 H 和荧光 F 的形式耗散。荧光量子产率  $\varphi_f$ 、光化学量子产率  $\varphi_p$ ,即荧光和光化学反应能量占总吸收能量的比例可分别用(1)、(2)式表示:

$$\varphi_f = \frac{k_f}{k_f + k_d + k_p}, \quad (1)$$

$$\varphi_p = \frac{k_p}{k_f + k_d + k_p}, \quad (2)$$

式中: $k_f$ 为荧光速率常数; $k_p$ 为光化学速率常数; $k_d$ 为热速率常数。

浮游植物长期暗适应后反应中心全部开放,在微弱光激发下产生的初始荧光效率  $F_0$ 取决于有效反应中心浓度[RCII]、捕光色素吸收截面  $\sigma_{LHCII}$ 和荧光量子产率  $\varphi_f$ :

$$F_0 \propto \varphi_f \times [\text{RCII}] \times \sigma_{LHCII}. \quad (3)$$

捕光色素吸收截面  $\sigma_{LHCII}$ 是表征捕光色素吸收光能能力的参数,其中用于光化学反应的部分(与反应中心光化学效率  $\varphi_p$ 有关)称为功能吸收截面  $\sigma_{PSII}$ :

$$\sigma_{PSII} = \sigma_{LHCII} \times \varphi_p. \quad (4)$$

由(1)~(4)式可知,初始荧光效率  $F_0$ 为

$$F_0 \propto \varphi_f \times [\text{RCII}] \times \frac{\sigma_{PSII}}{\varphi_p} = \left( \frac{k_f}{k_f + k_d + k_p} \right) \times [\text{RCII}] \times \sigma_{PSII} \times \frac{k_f + k_d + k_p}{k_p}. \quad (5)$$

将(5)式整理后可得

$$F_0 \propto \left( \frac{k_f}{k_p} \right) \times [\text{RCII}] \times \sigma_{PSII}. \quad (6)$$

对(6)式而言,浮游植物活体荧光量子产率  $\varphi_f$ 和化学量子产率  $\varphi_p$ 较稳定, $k_f/k_p$ 可以作为常数,因此通过荧光动力学法测量浮游植物的初始荧光效率  $F_0$ 和功能吸收截面  $\sigma_{PSII}$ 后,即可直接计算出有效反应中心浓度:

$$[\text{RCII}] \propto F_0 / \sigma_{PSII}. \quad (7)$$

### 3 材料与方法

#### 3.1 藻种培养

选择蛋白核小球藻(*C. pyrenoidosa*, FACHB-5, 中国科学院淡水藻种库)进行实验室扩大培养,实验藻种每隔 7~10 d 转接 1 次,保证其处于对数生长期。接种后的样品置于恒温摇床培养箱(MQD-S3R)中,转速为 150 r/min,实验温度为(25±1)℃,光照强度为 120  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,光暗比为 12 h:12 h。实验设置 3 个平行样品,每个实验样品测量 3 次,取其平均值作为测量结果。

#### 3.2 实验仪器与方法

##### 3.2.1 实验仪器

采用荧光动力学法和同化系数法对不同条件下浮游植物的光合反应中心浓度进行对比实验,实验所需测量参数与仪器如表 1 所示(荧光动力学法和同化系数法所得的有效光合反应中心浓度分别记为  $[\text{RCII}]_y$ 和  $[\text{RCII}]_t$ )。荧光动力学法的 2 个关键参数初始荧光  $F_0$ 和功能吸收截面  $\sigma_{PSII}$ ,以及表征有效光合反应比例参数  $F_v/F_m$ 均通过可变光脉冲诱导荧光分析仪(AGHJ-TPLIF-I)测量获得;同化系数法测量原理是对测量得到的叶绿素 a 的浓度进行同化反演以得到光合有效反应中心的浓度,而叶绿素 a 的浓度与 680 nm 处的光密度值  $\text{OD}_{680}$ 之间有良好的相关关系, $R^2 > 0.990$ ,因此同化系数法所需的叶绿素 a 的浓度可通过紫外-可见分光光度计(UV-2550)测量  $\text{OD}_{680}$ 后反演得到。

##### 3.2.2 正常生理状态下浮游植物测试实验

取处于对数期正常生长状态的蛋白核小球藻(叶绿素 a 的质量浓度为 1080  $\mu\text{g}/\text{L}$ ),用 25℃的去离子水稀释成一系列浓度梯度(25、50、75、100、125、150 倍稀释)的待测样品,并测量其最大光化学效率  $F_v/F_m$ 。采用荧光动力学法测量样品的有效光合反应中心浓度;采用同化系数法测量叶绿素 a 的浓度,

表 1 荧光动力学法和同化系数法测量有效反应中心浓度涉及的参数和测量仪器

Table 1 Parameters and instrument needed for concentration of functional reaction center by fluorescence kinetics method and assimilation coefficient method

Method	Formula	Parameter	Measuring instrument
Fluorescence kinetics method	$[RCII]_y = F_0 / \sigma_{PSII}$	$F_0, \sigma_{PSII}$	AGHJ-TPLIF-I
Photosynthetic activity		$F_v / F_m$	AGHJ-TPLIF-I
Assimilation coefficient method	$[RCII]_t = n_{PSII} \cdot [CHL a]$	$[CHL a]$	UV-2550
		$n_{PSII}$	-

然后对其进行同化反演以得到有效光合反应中心的浓度。

### 3.2.3 非正常生理状态下浮游植物测试实验

#### (1) 短期 DCMU 和热胁迫条件

DCMU(二氯苯基二甲脲)是一种除草剂(敌草隆),它可以抑制 PSII 上的  $Q_A$  向 PQ 的电子传递,是一种光合抑制剂及光形态建成抑制剂。选取 DCMU 胁迫和热胁迫进行短期胁迫实验研究。选取叶绿素 a 的质量浓度为  $690 \mu\text{g/L}$  的蛋白核小球藻样品 50 mL,加入质量浓度为  $1 \text{ mg/L}$  的 DCMU  $10 \mu\text{L}$ ,分别在 0, 30, 60, 80, 140, 210, 290, 390, 460 min 时测量  $F_v / F_m$ ,同时采用荧光动力学法测量样品有效光合反应中心浓度,采用同化系数法测量叶绿素 a 的浓度,进而通过同化反演得到有效光合反应中心的浓度。

选取叶绿素 a 质量浓度为  $1270 \mu\text{g/L}$  的蛋白核小球藻样品,放置在  $45^\circ\text{C}$  恒温摇床培养箱内,开始计时后,分别在 0, 30, 60, 80, 140, 210, 290, 390, 460 min 时测量  $F_v / F_m$ ,同时采用荧光动力学法测量样品有效光合反应中心浓度采用同化系数法测量叶绿素 a 的浓度,进而通过同化反演得到有效光合反应中心的浓度。

#### (2) 长期光照胁迫条件

选取初始叶绿素 a 质量浓度为  $800 \mu\text{g/L}$  的蛋白核小球藻样品,分别在光照强度为 20, 45, 70, 90, 120, 200  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  的  $25^\circ\text{C}$  恒温摇床培养箱内培养 5 d,然后测量  $F_v / F_m$ ,同时采用荧光动力学法测量样品有效光合反应中心浓度,采用同化系数法测量叶绿素 a 的浓度,进而通过同化反演得到有效光合反应中心的浓度。

## 4 结果与讨论

### 4.1 正常生理状态下 $[RCII]$ 的测量结果及分析

用与实验用藻培养温度相同的去离子水对藻进

行稀释处理,蛋白核小球藻的细胞浓度、叶绿素 a 的浓度和有效光合反应中心浓度相应地降低,但此过程不会对藻的活性产生影响。光合活性  $F_v / F_m$ 、有效反应中心浓度  $[RCII]_y$  和  $[RCII]_t$  随稀释倍数的变化趋势,以及  $[RCII]_y$  与  $[RCII]_t$  的线性关系如图 2 所示。

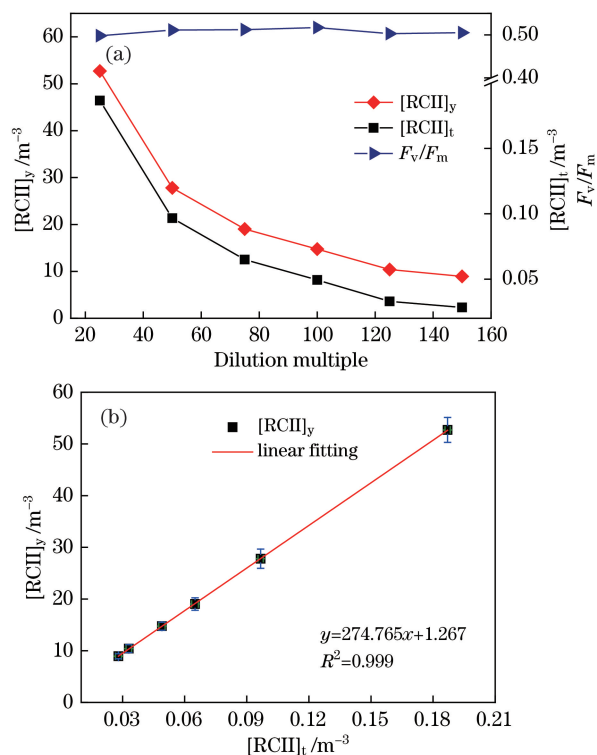


图 2 (a) 正常生理状态下蛋白核小球藻光合活性  $F_v / F_m$ 、有效反应中心浓度 ( $[RCII]_y$  和  $[RCII]_t$ ) 随稀释倍数变化的关系; (b)  $[RCII]_y$  和  $[RCII]_t$  的线性关系  
Fig. 2 (a) Changes of photosynthetic activity  $F_v / F_m$  or concentration of functional reaction center ( $[RCII]_y$  and  $[RCII]_t$ ) of *C. pyrenoidosa* with dilution multiple under normal physiological condition; (b) linear relationship between  $[RCII]_y$  and  $[RCII]_t$

由图 2(a) 可知,随着稀释倍数增大,  $F_v / F_m$  基本不变,  $[RCII]_y$  和  $[RCII]_t$  呈下降的趋势,其值分别



由  $52.710, 0.187 \text{ m}^{-3}$  下降到  $8.939, 0.028 \text{ m}^{-3}$ 。这表明没有胁迫因子时,仅进行稀释处理的藻的活性和光合单元尺寸是不变的,只有叶绿素 a 的浓度随稀释倍数的增加而相应地降低,所以此时利用同化系数法能够准确测量有效反应中心浓度。图 2(b)表明,  $[\text{RCII}]_y$  和  $[\text{RCII}]_t$  具有良好的线性关系,相关系数  $R^2 = 0.999$ ,同时系数显著 ( $P < 0.05$ ),即在正常生理状态下,荧光动力学法能够获得浮游植物有效反应中心浓度。

#### 4.2 短期胁迫条件下 $[\text{RCII}]$ 的测量结果及分析

DCMU 是一种能够与  $D_1$  蛋白上  $Q_B$  位点结合的电子抑制剂,可以抑制  $Q_A$  到  $Q_B$  传递,热胁迫同 DCMU 胁迫的原理相似,都会导致反应中心蛋白上电子结合位点的失活,抑制系统的光化学反应,最终导致反应中心失活。短时间胁迫条件下,浮游植物反应中心浓度不发生变化,以反应中心的  $F_v/F_m$  随胁迫时间的变化来衡量有效反应中心浓度的变化趋势,结果如图 3 和图 4 所示。

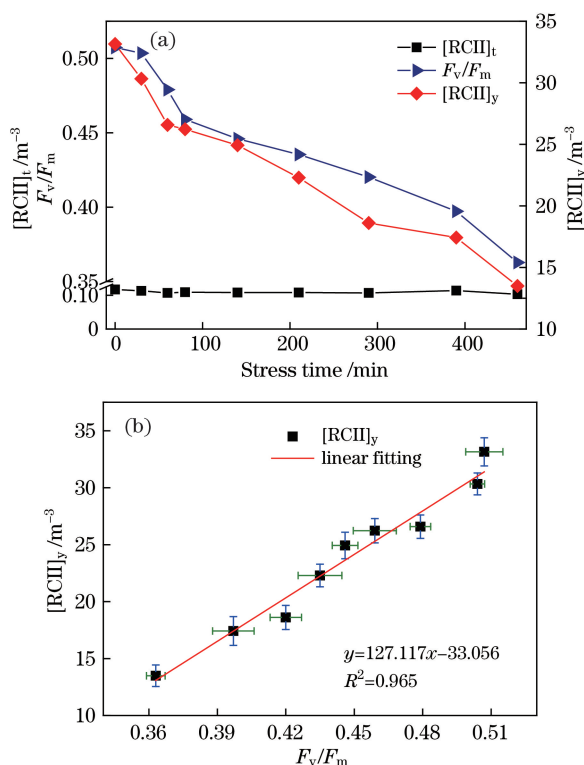


图 3 (a)蛋白核小球藻在 DCMU 胁迫作用下的光合活性 ( $F_v/F_m$ )、有效反应中心浓度 ( $[\text{RCII}]_y$  和  $[\text{RCII}]_t$ ) 随胁迫时间的变化;(b)  $[\text{RCII}]_y$  和  $F_v/F_m$  的线性关系  
Fig. 3 (a) Changes of photosynthetic activity  $F_v/F_m$  or concentration of functional reaction centers ( $[\text{RCII}]_y$  and  $[\text{RCII}]_t$ ) of *C. pyrenoidosa* stressed by DCMU with time; (b) linear relationship between  $[\text{RCII}]_y$  and  $F_v/F_m$

图 3(a)表明,随 DCMU 胁迫时间延长,  $[\text{RCII}]_y$  和  $F_v/F_m$  具有相似的变化趋势,且均呈下降的趋势,  $[\text{RCII}]_y$  由  $33.149 \text{ m}^{-3}$  降到  $13.495 \text{ m}^{-3}$ ,  $F_v/F_m$  由 0.507 降到 0.362,而  $[\text{RCII}]_t$  基本保持不变。在短期胁迫条件下,蛋白核小球藻生长不明显,可认为叶绿素 a 的浓度不发生变化,光合单元尺寸也基本不变,只有光合活性会受到胁迫影响而降低。图 3(b)表明,  $[\text{RCII}]_y$  和  $F_v/F_m$  具有良好的线性关系,相关系数  $R^2$  可达 0.965,同时系数显著 ( $P < 0.05$ )。在热胁迫条件下,随着胁迫时间延长,  $[\text{RCII}]_y$ 、 $[\text{RCII}]_t$  和  $F_v/F_m$  的变化与 DCMU 胁迫时呈现出相同的变化趋势,  $[\text{RCII}]_y$  和  $F_v/F_m$  也具有较好的线性关系,相关系数  $R^2$  达到 0.920,同时系数显著 ( $P < 0.05$ ),如图 4 所示。结果表明,在 DCMU 和热胁迫条件下,荧光动力学法测得的有效光合反应中心浓度与光合反应中心的活性具有较好的一致性,即在藻类光合活性状态受到影响时,荧光动力学法仍具有可行性。

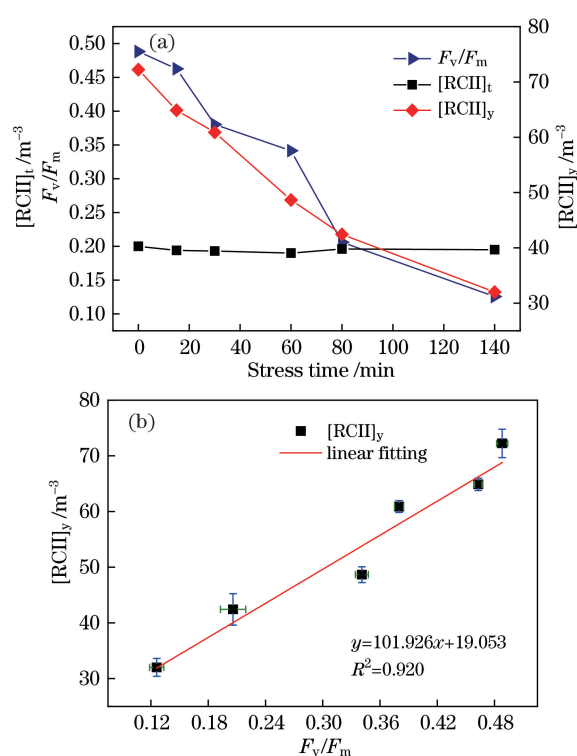


图 4 (a)蛋白核小球藻在受热胁迫作用下的光合活性 ( $F_v/F_m$ )、有效反应中心浓度 ( $[\text{RCII}]_y$  和  $[\text{RCII}]_t$ ) 随胁迫时间的变化;(b)  $[\text{RCII}]_y$  和  $F_v/F_m$  的线性关系  
Fig. 4 (a) Changes of photosynthetic activity  $F_v/F_m$  or concentration of functional reaction centers ( $[\text{RCII}]_y$  and  $[\text{RCII}]_t$ ) of *C. pyrenoidosa* stressed by thermal with time; (b) linear relationship between  $[\text{RCII}]_y$  and  $F_v/F_m$

### 4.3 长期光照胁迫条件下[RCII]的测量结果及分析

在测量有效光合反应中心浓度的研究中,通常将光合单元尺寸  $n_{\text{PSII}}$  作为常数,因此有效光合反应中心浓度[RCII]<sub>c</sub>可由叶绿素 a 的浓度[CHL a]和光合活性( $F_v/F_m$ )来表征。然而,越来越多的学者发现在不同营养盐或光照条件下, $n_{\text{PSII}}$ 不再是常数。如,Moore 等<sup>[13]</sup>发现密球藻在光照强度分别为 18, 80, 300  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 条件下培养一段时间后, $n_{\text{PSII}}$ 分别为 0.0010、0.0012 和 0.0017,即  $n_{\text{PSII}}$ 会随光照强度的增大而增大。本研究以光照强度作为改变  $n_{\text{PSII}}$ 的胁迫因子,通过设置不同的光照强度,对比分析了荧光动力学法与固定参数  $n_{\text{PSII}}$ 方法测得的有效光合反应中心浓度的差异,结果如图 5 所示。

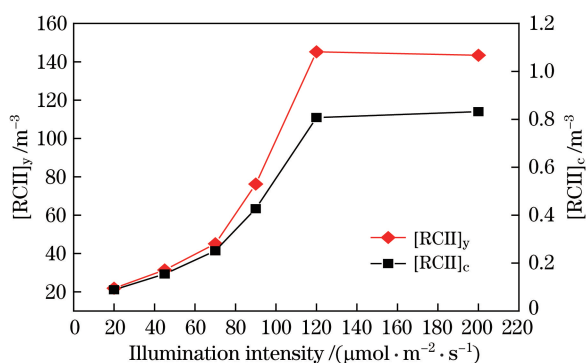


图 5 不同光照胁迫作用下蛋白核小球藻的有效反应中心浓度([RCII]<sub>y</sub>和[RCII]<sub>c</sub>)随光照强度的变化

Fig. 5 Changes of concentration of functional reaction centers ([RCII]<sub>y</sub> and [RCII]<sub>c</sub>) of *C. pyrenoidosa* stressed by illumination intensity with illumination intensity

图 5 表明:随着培养光照强度增大,[RCII]<sub>y</sub>和[RCII]<sub>c</sub>具有相同的变化趋势;在光照强度低于 120  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的条件下,随着光照强度增大,[RCII]<sub>y</sub>和[RCII]<sub>c</sub>均呈上升趋势,但两者随光照强度的上升幅度不同;当光照强度达到 120  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,两者上升幅度差值达到最大,之后两者上升幅度差值基本维持不变;培养光照强度上升时,[RCII]<sub>y</sub>和[RCII]<sub>c</sub>差值增大,表明浮游植物的光合单元尺寸增大,与已有研究结果一致;当光照强度超过 120  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时,强光会抑制对光合单元尺寸产生的影响,即  $n_{\text{PSII}}$ 不再增大。综上,长期光照胁迫实验结果表明,荧光动力学法测得的有效反应中心浓度[RCII]<sub>y</sub>能够反映光合单元尺寸  $n_{\text{PSII}}$ 的变化信息。

## 5 结 论

有效光合反应中心浓度是初级生产力的重要组成要素,准确获取浮游植物有效光合反应中心浓度

对赤潮和水华监测预警、水体初级生产力测量及海洋固碳量评估具有重要的科学意义和应用价值。本研究运用荧光动力学分析原理,基于初始荧光( $F_0$ )和功能吸收截面( $\sigma_{\text{PSII}}$ )荧光参数探讨了浮游植物有效光合反应中心浓度分析方法,并将该方法应用于不同胁迫培养条件下蛋白核小球藻有效光合反应中心浓度的测量中。结果表明,当浮游植物生长环境和生理状态发生变化时,该方法仍能准确测量浮游植物的有效光合反应中心浓度。与同化系数法相,该方法具有更广泛的适用范围。

致谢 衷心感谢国家环境保护环境光学监测技术重点实验室和国家环境光学监测仪器工程技术研究中心为开展研究工作所提供的技术与平台支持。

## 参 考 文 献

- [1] Zhang S R. A discussion on chlorophyll II fluorescence kinetics parameters and their significance[J]. Chinese Bulletin of Botany, 1999, 16(4): 444-448. 张守仁. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论[J]. 植物学通报, 1999, 16(4): 444-448.
- [2] Han B P, Han Z G, Fu X. Mechanism and models of algae photosynthesis[M]. Beijing: Science Press, 2003: 58-70. 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.
- [3] Pei S F, Laws E A. Does the <sup>14</sup>C method estimate net photosynthesis? II. Implications from cyclostat studies of marine phytoplankton[J]. Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers, 2014, 91: 94-100.
- [4] Qin Z S, Zhao N Y, Yin G F, et al. Inversion method of plant photosynthesis parameter based on fast phase and relaxation fluorescence kinetics[J]. Acta Optica Sinica, 2017, 37(7): 0730002. 覃志松, 赵南京, 殷高方, 等. 快相与弛豫荧光动力学植物光合作用参数反演方法[J]. 光学学报, 2017, 37(7): 0730002.
- [5] Kolber Z, Falkowski P G. Use of active fluorescence to estimate phytoplankton photosynthesis *in situ*[J]. Limnology and Oceanography, 1993, 38(8): 1646-1665.
- [6] Boyd P W, Abraham E R. Iron-mediated changes in phytoplankton photosynthetic competence during SOIREE[J]. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 2001, 48(11/12): 2529-2550.
- [7] Suggett D J, MacIntyre H L, Kana T M, et al. Comparing electron transport with gas exchange: parameterising exchange rates between alternative

- photosynthetic currencies for eukaryotic phytoplankton[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2009, 56(2/3): 147-162.
- [8] Dubinsky Z, Falkowski P G, Wyman K. Light harvesting and utilization by phytoplankton[J]. *Plant and Cell Physiology*, 1986, 27(7): 1335-1349.
- [9] Herzig R, Falkowski P G. Nitrogen limitation in *Isochrysis galbana* (Haptophyceae). I. photosynthetic energy conversion and growth efficiencies[J]. *Journal of Phycology*, 1989, 25(3): 462-471.
- [10] Suggest D J, Moore C M, Hickman A E, *et al.* Interpretation of fast repetition rate (FRR) fluorescence: signatures of community structure versus physiological state[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2009, 376: 1-19.
- [11] Falkowski P G, Owens T G, Ley A C, *et al.* Effect of growth irradiance levels on the ratio of reaction centers in two species of marine phytoplankton[J]. *Plant Physiology*, 1981, 68(4): 969-973.
- [12] Qiu X H, Zhang Y J, Yin G F, *et al.* Photosynthetic parameters inversion algorithm study based on chlorophyll fluorescence induction kinetics curve[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2015, 35(8): 2194-2197.
- 邱晓晗, 张玉钧, 殷高方, 等. 基于叶绿素荧光诱导动力学曲线的光合作用参数反演算法研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2015, 35(8): 2194-2197.
- [13] Moore C M, Suggest D, Holligan P M, *et al.* Physical controls on phytoplankton physiology and production at a shelf sea front: a fast repetition-rate fluorometer based field study[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2003, 259: 29-45.