

# 基于光诱导荧光技术的浮游植物光合作用活性原位测量方法

刘晶<sup>1,2</sup>, 刘文清<sup>2</sup>, 赵南京<sup>2\*</sup>, 张玉钧<sup>2</sup>, 马明俊<sup>2</sup>, 殷高方<sup>2</sup>,  
戴庞达<sup>2</sup>, 王志刚<sup>2</sup>, 王春龙<sup>2</sup>, 段静波<sup>2</sup>, 余晓娅<sup>2</sup>, 方丽<sup>2</sup>

1. 中国科学技术大学物理学院光学与光电工程系, 安徽合肥 230023

2. 中国科学院环境光学与技术重点实验室, 中国科学院安徽光学精密机械研究所, 安徽合肥 230031

**摘要** 根据浮游植物在不同光照下的荧光诱导特性, 研究了叶绿素荧光作为浮游植物光合作用探针的特点, 提出了原位测量活体叶绿素荧光值  $F_t$  和  $F_m$  获取浮游植物光合作用活性的方法。以淡水湖泊浮游植物中的普通小球藻、铜绿微囊藻和梅尼小环藻为实验对象, 将原位测量方法得到的数据和实验室水样荧光仪的测试结果进行对比分析, 结果表明: 普通小球藻、梅尼小环藻和铜绿微囊藻的两组测试结果之间的相关系数分别为 0.977 8, 0.867 8 和 0.776 8, 研究为进一步实现水体浮游植物光合作用活性的快速连续原位测量提供了方法。

**关键词** 原位分析; 浮游植物; 叶绿素 a; 光合作用; 活体荧光

**中图分类号**: O644.1 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2013)09-2443-05

## 引言

叶绿素荧光分析技术在植物生理学和生态学等领域已有广泛的应用, 并成为研究光合作用的强力分析手段。近年来环境污染逐渐加剧, 其中水体富营养化导致水华现象频频出现, 浮游植物大量繁殖使得水质恶化是我国环境污染面临的突出问题之一, 迫切要求环境监测部门对水体浮游植物的生长状况进行实时监测并预警。目前国内对于浮游植物的监测主要包含以 685 nm 处叶绿素 a 总体浓度测量<sup>[1]</sup>和根据各种浮游植物的荧光激发光谱特征进行的分类测量<sup>[2]</sup>, 实现了浮游植物生物信息总量的获取和分类的功能。林世青所在研究小组在生理学和生态学领域对高等植物光合作用开展了大量实验研究<sup>[3]</sup>, 获取了玉米幼苗叶片荧光动力学典型曲线图<sup>[4]</sup>, 匡廷云院士总结了国内学者在反应中心和核心色素、锰稳定蛋白质、细胞色素 b6/f 复合体和光合系统 I 复合体、光合磷酸化以及光抑制等方面的研究进展<sup>[5]</sup>。除了光合作用机理, 还进行了各种胁迫下的光合特性分析, 但是对于浮游植物生长状况的信息, 尤其是针对其光合作用活性的原位测量方法和仪器研制鲜有报道。国外学者根据活体浮游植物在光照下的叶绿素荧光诱导现象, 进行了大量的实验研究<sup>[6]</sup>和

仪器设备研制工作并形成了具有影响力的仪器设备<sup>[7]</sup>, Schreiber 团队近期研发的 MULTI-COLOR-PAM 提供了六种波长(400, 440, 480, 540, 590 以及 625 nm)的测量光和光化光, 其研究论文给出了不同波长光源的特性, 获得了藻类悬浮液在亚毫米尺度下的快速诱导动力学特性, 通过对饱和脉冲下的荧光上升特性得到了与波长和样品相关的 PSII 光学截面, 采用板上芯片技术(Chip-on-board, COB)将 60 个 LED 嵌入 1 cm<sup>2</sup> 的空间内, 为浮游植物在实验室测量提供了强大的工具<sup>[8]</sup>。Hazem 等总结了快速荧光和延迟荧光技术在光合作用中的应用和特点<sup>[9]</sup>。综上所述, 上述方法所需设备结构复杂、成本昂贵, 并需要获取完整的荧光诱导曲线数据且均要求对样品进行暗适应处理, 无法用于快速原位的浮游植物光合作用活性测量。本研究提出了一种原位测量活体叶绿素荧光  $F_t$  和  $F_m$  获取浮游植物光合作用活性的方法。

## 1 活体浮游植物荧光诱导现象产生的机理

Kautsky 效应和后续理论研究表明<sup>[11]</sup>: 活体植物(包含浮游植物)从暗处移动到光照下叶绿素荧光强度随时间而变化并且与 CO<sub>2</sub> 的固定有关; 叶绿素荧光迅速上升到最高点, 然后开始下降并最终达到一个稳定状态, 整个过程会持续几

收稿日期: 2012-12-27, 修订日期: 2013-03-06

基金项目: 安徽省自然科学基金项目(11040606M26), 国家高技术研究发展计划项目(2009AA063005), 安徽省杰出青年科学基金项目(1108085J19), 国家科技重大专项(2009ZX07420-008-05)和安徽光学精密机械研究所所长基金项目(Y03AG31144)资助

作者简介: 刘晶, 1988年生, 中国科学技术大学物理学院光学与光电工程系博士研究生 e-mail: jliu@aiofm.ac.cn

\* 通讯联系人 e-mail: njzhao@aiofm.ac.cn

分钟；荧光诱导曲线的上升反映了光合作用的原初光化学反应，若在最高点处关掉光源，则荧光迅速下降；荧光强度的变化与  $\text{CO}_2$  的固定呈相反的关系，荧光强度的下降会导致  $\text{CO}_2$  固定的增加，这说明当荧光强度下降时有更多的光能被转化成化学能<sup>[12]</sup>。这种荧光强度下降的现象被称为荧光猝灭，可以用以下两种方式来解释：首先，一旦光合系统 II (photosynthesis systems II, PSII) 吸收光能并且  $\text{Q}_\text{A}$  接收到一个电子，它就不能再接收别的电子直至将该电子传递给光合路径中紧随其后的电子载体  $\text{Q}_\text{B}$ ，在这个传递过程中光合系统的反应中心处于“关闭”状态，在这期间由于一部分反应中心的关闭会导致光化学反应效率的下降从而致使荧光强度上升；其次，从 PSII 反应中心被传输电子比例会上升，这是由于光诱导的作用激活了参与碳代谢的酶并使气孔张开，这种现象被称之为光化学猝灭(photochemical quenching, PQ)，与此同时吸收的能量转化成热量的比例也会上升，后面的过程与之对应的被称之为非光化学猝灭(non-photochemical quenching, NPQ)。

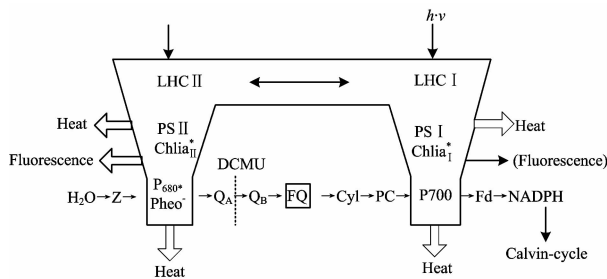


Fig. 1 Schematic view of energy conversion and primary electron transport in photosynthesis

当活体浮游植物受到光线照射的时候，体内的叶绿素、扑光色素复合体(light harvesting complexes, LHC)和天线系统(antennae system)会吸收光子能量被激发，这些能量主要用于以下三个途径：(1)驱动光合作用，在细胞体内进行光化学反应，将光能转化成化学能储存起来(光化学反应)；(2)以热量的形式向外扩散；(3)以荧光的形式向外辐射能量。根据能量守恒原理，上述三种过程处于相互竞争的关系中，其中一种能量转化效率的增加会导致其余两种去激发途径能量转化效率的降低，引起叶绿素荧光(Fluorescence)变化即荧光猝灭的因素有光化学反应(photochemical quenching)和热耗散(heat dissipate)。叶绿素荧光参数的测量相对容易，因而常通过获取叶绿素荧光量子产率的变化信息来判断光化学反应的效率和热量耗散的比例，因此叶绿素荧光可以作为探针来分析光合作用过程中光化学反应和热量耗散的具体信息。

## 2 浮游植物光合作用活性现有测量方法

为了准确获取光合作用过程中能量转化效率的详细信息，必须正确区分光化学反应和热量耗散对荧光猝灭的贡献，常用的途径是消除其中一种的影响。例如，在去除光化学反应的影响情况下可以通过叶绿素荧光产率来反映非光化

学反应对荧光猝灭的影响。可以通过添加化学试剂 DCMU 来打断电子传递，阻止产生光化学反应，这种方法不适合应用于快速测量测场合，Bradbury<sup>[13]</sup>，Quick<sup>[14]</sup>和 Schreiber<sup>[15]</sup>等提出了一种双光源技术可以使光化学反应在荧光猝灭中的比例降为零，主要思想是提供一种高强度的短脉冲光(饱和脉冲)来短暂的关闭所有 PSII 反应中心，由于脉冲时间足够短，基本可以忽略非光化学反应，并认为在脉冲光照射前后热量耗散和辐射荧光之间的比例保持不变。在脉冲光照射期间，荧光强度会达到峰值  $F_m$ ，通过分别比较光照下稳定荧光值  $F_s$  和没有进行光化学反应时的荧光值  $F_0$ ，可以得到光化学猝灭效率的信息即 PSII 将吸收的光能转化为化学能的效率值 yield。

根据上面介绍的叶绿素荧光诱导机理，建立叶绿素荧光产值与 PSII 的光化学猝灭效率值 yield 之间的模型：

活体叶绿素分子吸收的能量利用的途径有光化学猝灭(P)、热量耗散(D)和荧光发射(F)。

$$P + D + F = 1 \quad (1)$$

在强脉冲光的照射下，光合系统的反应中心被“关闭”导致光化学猝灭比例  $P$  降为零，且认为热量耗散和荧光发射的比例关系不会改变，其中  $D$  和  $F$  分别代表强脉冲光作用前的热量耗散和荧光发射占吸收能量的比例， $P_{\text{sat}}$ 、 $D_{\text{sat}}$  和  $F_{\text{sat}}$  分别为饱和脉冲光作用时光化学反应、热量耗散和荧光发射占总吸收能量的比例。

$$P_{\text{sat}} = 0 \text{ 则 } D_{\text{sat}} + F_{\text{sat}} = 1 \quad (2)$$

$$D/F = D_{\text{sat}}/F_{\text{sat}} \quad (3)$$

将式(2)和式(3)代入等式(1)，可以得到

$$P = 1 - D - F = 1 - FD_{\text{sat}}/F_{\text{sat}} - F = (F_{\text{sat}} - F)/F_{\text{sat}} \quad (4)$$

由式(4)可以得到结论：通过测量强脉冲照射前后的叶绿素荧光强度值，可以得到 PSII 反应中心将吸收的光能转化成化学能的效率值 yield，在实际应用中可以测量暗适应和光适应后的 yield 来表征浮游植物的光合作用量子产率。

因此，测量的过程中只需要记录饱和脉冲光作用前后叶绿素荧光强度，脉冲振幅调制技术提供了一种很好的解决方案：采用一定频率调制的微弱测量光照射暗适应后样品，由于入射光十分微弱导致活体叶绿素分子体内的电子传递现象没有产生，叶绿素 a 分子、LHC 和天线系统的色素会在接受光照后向四周辐射荧光，这时的荧光强度代表了活体叶绿素分子的荧光本底值  $F_0$ ；接下来打开一个持续时间很短的强脉冲光(饱和脉冲光)，荧光强度会迅速上升到峰值  $F_m$ ，通过上述模型即可以得到暗适应处理后浮游植物的光合作用活性 yield。通常脉冲光被调制与微弱测量光不同的频率，以便通过锁相放大系统实现测量光同频率的荧光信号检测， $F_m$  并不包含强脉冲光所在频率的荧光。当活体叶绿素分子在光化光的照射下，PSII 反应中心的电子传递开始持续进行并最终达到一个稳定状态，荧光强度值也会最终处于稳定值  $F_s$ 。在这个过程中通过周期性地提供饱和脉冲光就可以连续地获取浮游植物光合作用量子产率在光适应过程中的变化情况，直至 yield 达到一个稳定值。图 2 给出了脉冲振幅调制技术测量光合作用活性的过程。

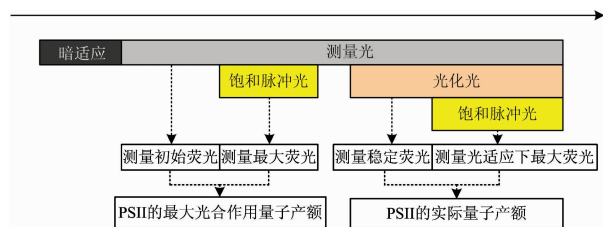


Fig. 2 Process of phytoplankton photosynthesis activity measurement

Cleveland<sup>[17]</sup>和Kolber<sup>[18]</sup>等研究表明基于  $F_t$  和  $F_m$  计算得到的浮游植物光化学效率基本不受生长时光照条件的影响(不包含光强过强时导致光抑制引起的 yield 值下降),此外还得出氮限制情况下 yield 值与浮游植物生长速率之间呈指数关系的结论。因此不论在水源地还是富营养化严重的湖库河流 yield 值都可以用来表征浮游植物生长状况。

### 3 基于活体叶绿素荧光 $F_t$ 和 $F_m$ 获取浮游植物光合作用活性的原位测量方法

如上所述,目前的光合作用活性测量方法首先要对样品进行暗适应处理,通过微弱测量光激发叶绿素 a 以及色素的荧光信号,然后再提供持续时间为 1~3 s 的高强度饱和脉冲光,实现没有光化学反应产生条件下的光合作用活性测量。这时测得的 yield 代表了样品的最大光合作用活性,但是通常用来表征浮游植物的生长状况的光合作用活性却是光适应状态下的 yield,为此现有的测量方法和仪器提供了十分复杂的光化光光源,如引言所述提供了六种波长的和 20 种光照强度,并且针对不同浮游植物和生长状态下需要选取合适的波长和光照强度。

现有的测量方法需要对样品进行暗适应处理、参数设置复杂以及数据量巨大,因而不适于连续原位测量浮游植物光合作用活性。因此,本课题组提出了一种基于活体叶绿素荧光  $F_t$  和  $F_m$  获取浮游植物光合作用活性的原位测量方法。

该原位测量方法同样采用脉冲振幅调制技术,只需测量  $F_t$  和  $F_m$  两个荧光强度值,其中  $F_t$  代表光适应状态下与测

量光同频率的荧光信号,  $F_m$  为饱和脉冲光照射时的最大荧光信号。在实际水体环境中浮游植物生长状态取决于温度、浊度、溶解氧、pH 值以及叶绿素含量等参数,原位测量的结果可以很好的反应光合作用活性与这些参数的相互关系,利用实际环境光使浮游植物处于光适应状态避免了复杂的光化光光源的参数设置,直接测量光适应状态下的光合作用活性可以省去暗适应过程并且只需要提供测量光和饱和脉冲光即可实现光合作用活性的原位测量。

脉冲振幅调制技术测定浮游植物光合作用活性 yield 值的关键是测定饱和脉冲光照射前后的叶绿素荧光值  $F$  和  $F_m$ ,通过荧光诱导特性的测量可以知道光适应后样品的荧光值  $F$  和  $F_m$  均会达到一个稳定水平,根据最终稳定的  $F_t$  和  $F_m$  可以计算出光适应状态下的样品光合作用活性值 yield。

因此只需要测定光适应下的  $F_t$  和  $F_m$  就可以获取浮游植物光合作用活性的信息,因而不需要测量完整的荧光诱导曲线,这样就可以简化测量,并且避免需要暗适应而导致无法原位测量的问题,使得这种方法更适用连续原位测量的应用场合。

## 4 结果与讨论

### 4.1 浮游植物样品溶液配制

铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*)、普通小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 和梅尼小环藻 (*Cyclotella meneghiniana* Kiits) 由中国科学院水生生物研究所淡水藻种库提供。实验室培养浮游植物的纯种培养体,具体培养方法参考文献 [10]。分别配置三种浮游植物样本,其浓度分别为 1, 10, 20, 50, 80 和 200  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,为简便起见 4.3 节各样本分别记为浓度 1、浓度 2、浓度 3、浓度 4、浓度 5 和浓度 6。

### 4.2 浮游植物光合作用活性测量

测量前对实验室配置的三种样品和实际水体的两个样品进行暗适应 10 min 处理,利用水样荧光仪 (Walz, 德国) 测量荧光诱导曲线并记录 yield 变化趋势。

对实验室配置的纯种浮游植物铜绿微囊藻、普通小球藻和梅尼小环藻进行了完整的荧光诱导曲线测量。

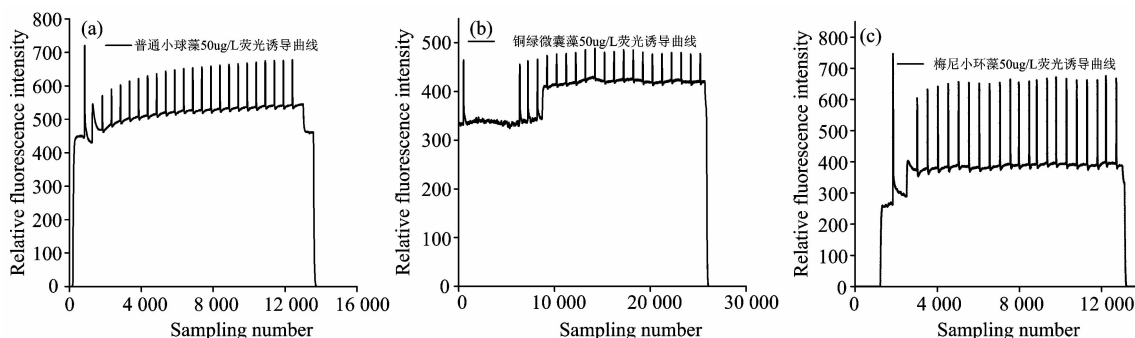


Fig. 3 Phytoplankton fluorescence induced curve measured in lab

从上述荧光诱导曲线可以发现: yield 值在光化光照射前最大,在光化光的作用下叶绿素荧光强度值呈现出上升后下

降的趋势,期间提供的饱和脉冲光记录下了光适应过程中的光合作用活性变化趋势, yield 从一个较小的值慢慢上升到一

个稳定水平。其中普通小球藻和梅尼小环藻的测试情况比较理想, 光适应后的 yield 分别为 0.196 和 0.411, 这表明普通小球藻的光合作用活性处于较低的水平, 梅尼小环藻利用吸收的光能进行光合作用的能力则比较正常, 另外铜绿微囊藻由于暗适应过程中沉降现象十分明显, 即便在测量过程中使用搅拌器, 荧光信号也不太稳定, 但是多次测量得到的 yield 的变化趋于平缓, 因此并不影响光合作用活性的测量。

#### 4.3 基于 $F_i$ 和 $F_m$ 的光合作用活性原位测量与对比分析

表 1—表 3 中分别记录饱和和脉冲光照射前后的荧光强度值, 以及计算得到光合作用活性 yield。通过光化光照射下周

**Table 1 Fluorescence intensity ( $F$  and  $F_m$ ) of *Chlorella vulgaris* and yield**

$F$	$F_m$	yield	$F$	$F_m$	yield
448	721	0.379	528	654	0.193
487	590	0.175	528	656	0.195
497	603	0.176	531	659	0.194
504	614	0.179	532	662	0.196
510	622	0.180	534	664	0.196
512	630	0.187	536	666	0.195
516	636	0.189	536	668	0.198
522	643	0.188	538	671	0.198
524	648	0.191	542	675	0.197
528	652	0.190	542	676	0.198

**Table 2 Fluorescence intensity ( $F$  and  $F_m$ ) of *Microcystis aeruginosa* and yield**

$F$	$F_m$	yield	$F$	$F_m$	yield
331	465	0.288	422	481	0.123
336	456	0.263	422	482	0.124
342	463	0.261	425	486	0.126
344	466	0.262	426	485	0.122
410	474	0.135	423	481	0.121
415	477	0.130	419	477	0.122
416	478	0.130	420	478	0.121
419	479	0.125	423	480	0.119
426	486	0.123	423	480	0.119
429	489	0.123	418	477	0.124

**Table 3 Fluorescence intensity ( $F$  and  $F_m$ ) of *Cyclotella meneghiniana* and yield**

$F$	$F_m$	yield	$F$	$F_m$	yield
264	746	0.646	394	664	0.407
374	604	0.381	390	655	0.405
380	632	0.399	392	658	0.404
382	640	0.403	393	662	0.406
384	650	0.409	396	667	0.406
387	656	0.410	397	671	0.408
383	654	0.414	394	666	0.408
382	651	0.413	390	662	0.411
382	650	0.412	392	662	0.408
388	654	0.407	390	662	0.411

期性地提供饱和和脉冲光可以获取浮游植物在光适应过程中的光合作用活性, 荧光强度  $F$ ,  $F_m$  和 yield 计算值在光化光照射后由小变大并很快达到一个稳定水平, 这代表着在光化光作用下浮游植物吸收的能量用于发射荧光、热量耗散和进行光合作用这三种途径达到了动态平衡的状态, 最终稳定的 yield 值表征了浮游植物实际的光合作用活性大小。

通过测定实验室配置的三种纯种藻类样品的光合作用活性值, 实验结果见表 4—表 6。

**Table 4 Comparison of photosynthesis activity between in situ method and in lab (*Chlorella vulgaris*)**

	浓度 1	浓度 2	浓度 3	浓度 4	浓度 5	浓度 6
自研系统	0.382	0.316	0.277	0.247	0.261	0.263
实验室仪器	0.343	0.241	0.217	0.198	0.205	0.207

**Table 5 Comparison of photosynthesis activity between in situ method and in lab (*Microcystis aeruginosa*)**

	浓度 1	浓度 2	浓度 3	浓度 4	浓度 5	浓度 6
自研系统		0.130	0.144	0.136	0.123	0.114
实验室仪器		0.127	0.123	0.119	0.076	0.076

**Table 6 Comparison of photosynthesis activity between in situ method and in lab (*Cyclotella meneghiniana*)**

	浓度 1	浓度 2	浓度 3	浓度 4	浓度 5	浓度 6
自研系统		0.470	0.537	0.497	0.499	0.517
实验室仪器		0.395	0.532	0.409	0.411	0.430

实验中铜绿微囊藻和梅尼小环藻样本浓度为  $1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  时荧光诱导现象不明显, 故没有纳入对比分析的范围。通过计算得到普通小球藻、梅尼小环藻和铜绿微囊藻的两组测试结果之间的相关系数分别为 0.977 8, 0.867 8 和 0.776 8。

## 5 结 论

提出了一种原位测量活体叶绿素荧光  $F_i$  和  $F_m$  获取浮游植物光合作用活性的方法。该法可揭示实际水体浮游植物光浮游植物的光合作用活性变化信息, 且测试结果与水样荧光法测得结果具有较好的一致性, 与需要暗适应处理的诱导特性测量方法相比具有操作简洁、数据量小、结构相对简单易于原位测量等优点。因此, 该法在浮游植物原位荧光检测中有非常好的应用前景。

提出了一种原位测量活体叶绿素荧光  $F_i$  和  $F_m$  获取浮游植物光合作用活性的方法并研制了原位测量设备, 实现了对富营养化水体光合作用活性连续原位测量, 该方法可以揭示了实际水体浮游植物光浮游植物的光合作用活性变化信息。在实验室条件下与水样荧光仪进行了对比实验, 普通小球藻、梅尼小环藻和铜绿微囊藻的两组测试结果之间的相关系数分别为 0.977 8, 0.878 6 和 0.795 3。光合作用活性在浮游植物的不同生长阶段直接表征了其生长状况, 实现浮游植物光合作用活性的快速、原位监测不仅能为研究浮游植物生

长状况与、水华发生之间的关系, 以及提供水华暴发及饮用水安全预警的实时监测数据, 而且为研究浮游植物不同生长

时期藻类光合作用活性与藻毒素的产生与释放行为关系提供快速的浮游植物状态监测手段。

## References

- [ 1 ] ZHAO You-quan, WEI Hong-yan, LI Dan, et al(赵友全, 魏红艳, 李 丹, 等). Chinese Journal of Scientific Instrument(仪器仪表学报), 2010, 31: 1342.
- [ 2 ] WANG Zhi-gang, LIU Wen-qing, ZHANG Yu-jun, et al(王志刚, 刘文清, 张玉钧, 等). China Environmental Science(中国环境科学), 2008, 28: 329.
- [ 3 ] LIN Shi-qing, XU Chun-hui, ZHANG Qi-de, et al(林世青, 许春辉, 张其德, 等). Chinese Bulletin of Botany(植物学通报), 1992, 9: 1.
- [ 4 ] WEN Xiao-gang, LIN Shi-qing, KUANG Ting-yun, et al(温晓刚, 林世青, 匡廷云, 等). Chinese Bulletin of Botany(植物学通报), 1997, 14: 51.
- [ 5 ] Kuang T Y, Xu C H, Li L B, Shen Y K. Photosynthesis Research, 2003, 76: 451.
- [ 6 ] Schliwa U, Bilger W. Photosynthesis Research, 1986, 10: 51.
- [ 7 ] Ulrich Schreiber, Christof Klughammer, Jörg Kolbowski. Photosynthesis Research, 2012, 113: 127.
- [ 8 ] Ulrich Schreiber, Christof Klughammer, Jörg Kolbowski. PAM Application Notes, 2011, 1: 1.
- [ 9 ] Hazem M Kalaji, Vasilij Goltsev, Karolina Bosa, et al. Photosynthesis Research, 2012.
- [10] WANG Zhi-gang, LIU Wen-qing, ZHANG Yu-jun, et al(王志刚, 刘文清, 张玉钧, 等). China Environmental Science(中国环境科学), 2008, 28: 136.
- [11] Kate Maxwell, Giles N Johnson. Journal of Experimental Botany, 2000, 51: 659.
- [12] Govindjee. Austrian Journal of Plant Physiol. , 1995, 22: 131.
- [13] Michael Bradbury, Neil R Baker. Biochimica et Biophysica Acta, 1981, 635: 542.
- [14] Quick W P, Horton P. Proceedings of the Royal Society of London B, 1984, 220: 361.
- [15] Schreiber U. Photosynthesis Research, 1986, 9: 261.
- [16] Genty B, Briantais J M, Baker N R. Biochimica et Biophysica Acta, 1989, 990: 87.
- [17] Cleveland J S, Perry M J. Marine Biology, 1987, 94: 489.
- [18] Kolber Z, Zehr J, Falkowski P. Plant Physiol. , 1988, 88: 923.

## The Method of Phytoplankton Photosynthesis Activity In-Situ Measurement Based on Light Induced Fluorescence

LIU Jing<sup>1, 2</sup>, LIU Wen-qing<sup>2</sup>, ZHAO Nan-jing<sup>2\*</sup>, ZHANG Yu-jun<sup>2</sup>, MA Ming-jun<sup>2</sup>, YIN Gao-fang<sup>2</sup>, DAI Pang-da<sup>2</sup>, WANG Zhi-gang<sup>2</sup>, WANG Chun-long<sup>2</sup>, DUAN Jing-bo<sup>2</sup>, YU Xiao-ya<sup>2</sup>, FANG Li<sup>2</sup>

1. School of Physical Science, University of Science and Technology of China, Hefei 230023, China

2. Key Lab of Environmental Optics & Technology, Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China

**Abstract** According to the phytoplankton fluorescence induction characteristics under different light conditions, chlorophyll fluorescence as a probe for analysis of phytoplankton photosynthesis was studied. The present paper proposed a in-situ measurement method based on the chlorophyll fluorescence values  $F_i$  and  $F_m$  to get phytoplankton photosynthesis activity, *Chlorella vulgaris*, *microcystis aeruginosa* and *Cyclotella meneghiniana* Kiits were selected as experimental subjects, a comparison test was done between self-developed in-situ measurement system and Water PAM in lab, and The results showed that coefficients between the two methods were 0.977 8, 0.878 6 and 0.795 3. This work provides a rapid and in-situ measurement method for phytoplankton photosynthesis activity.

**Keywords** In-situ analysis; Phytoplankton; Chlorophylla; Photosynthesis activity; Vivo fluorescence

\* Corresponding author

(Received Dec. 27, 2012; accepted Mar. 6, 2013)