

不同地理株中肋骨条藻生长特性及 RAPD 多态性

韩笑天¹, 王 嫻¹, 郑 立^{1,3}, 俞志明¹, 宋秀贤¹, 刘洁生², 邹景忠^{1*}

(1. 中国科学院海洋研究所 海洋生态与环境重点实验室, 青岛 266071; 2. 暨南大学, 广州 510632;
3. 国家海洋局第一海洋研究所, 青岛 266061)

摘要:通过对不同地理株肋骨条藻形态和亚显微结构的观察和描述, 鉴定为中肋骨条藻, 但发现在刺长、细胞间隙、细胞链形态、链上细胞数, 色素体个数方面存在差别; 通过不同 N : P 营养盐实验, 结果表明, 在 N : P 为 16 : 1 时, 东海株和胶州湾株中肋骨条藻均得到最大生长率, 分别为 1.66d⁻¹ 和 1.53 d⁻¹, 东海株中肋骨条藻最大生长率要高于胶州湾株中肋骨条藻, 这表明在不同的海域环境条件下, 中肋骨条藻的生长均有各自地域性特征。应用 RAPD 技术对两地理株中肋骨条藻进行鉴别, 以其全 DNA 为模板进行 RAPD 扩增, 两不同地理株的中肋骨条藻表现不同的 DNA 多态性, 同样以各自的小亚基片段为模板进行的 RAPD 扩增条带也表现出差异性。实验结果表明, 两株中肋骨条藻应为种下的不同变种或亚种。

关键词:中肋骨条藻; 不同地理株; 形态特征; 生理生态特征; DNA 多态性

RAPD polymorphisms and growth feature of different strains *Skeletonema costatum*

HAN Xiao-Tian¹, WANG Xian¹, ZHENG Li^{1,3}, YU Zhi-Ming¹, SONG Xiu-Xian¹, LIU Jie-Sheng², ZOU Jing-Zhong^{1*} (1. *Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071*; 2. *Ji'nan University, Guangzhou 510632*; 3. *1st Inst. of Oceanography, State Oceanic Administration, Qingdao 266061*). *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(11): 2602~2607.

Abstract: *Skeletonema* belongs to Diatoms and can cause Harmful Algal Bloom. Two strains *Skeletonema*. come from two seas, the East China Sea and Jiaozhou Bay. By light microscope and scanning electronic microscope two strains were identified as *Skeletonema costatum*. It is found that two strains are different in strutted processes length, cell interval, cell colony feature, number of the cells on the cell colony and number of chromatoplast under light microscope. The cells of *Skeletonema costatum* cultured with different proportions of nitrate and phosphate show that the culture conditions affect the growth rate of *S. costatum*. By comparing DNA polymorphism with RAPD technology, it shows that there are different bands for the two strains after eletrophoresis. Thus, it can be concluded that the two strains collected from the East China Sea and JiaoZhou Bay different varieties or subspecies of *S. costatum*.

Key words: *Skeletonema costatum*; strains; morphology; biogeography; DNA Polymorphism

文章编号: 1000-0933(2004)11-2602-06 中图分类号: Q173 文献标识码: A

中肋骨条藻是我国近海广泛分布种, 自北至南各海区均在特定季节成为优势种群, 并常形成中肋骨条藻赤潮, 是我国近海常见的有害微藻, 也是良好的污染指示生物^[1,2]。由于多次在胶州湾及其它海域形成赤潮, 对海洋生态环境造成严重危害, 因此引起赤潮研究者的广泛关注^[3~7]。栖息于渤海湾的中肋骨条藻, 其种群的最适温度为 20~26℃, 盐度 25~30, 其数量一般以冬春

基金项目: 国家重点基础研究规划资助项目 (2001CB409701, 2001CB409710); 国家自然科学基金资助项目 (40376040)

收稿日期: 2004-02-18; 修订日期: 2004-08-26

作者简介: 韩笑天 (1975~), 女, 山西阳泉人, 硕士, 助研, 主要从事赤潮生物分类及生理生态研究。E-mail, xthan@ms.qdio.ac.cn

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: jzou@ms.qdio.ac.cn

Foundation item: National basic research priorities programme (No. 2001CB409701, 2001CB409710); National natural science foundation of China (No. 40376040)

Received date: 2004-02-18; **Accepted date:** 2004-08-26

Biography: HAN Xiao-Tian, Assistant Researcher, mainly engaged in taxonomy, physiology and ecology of harmful algae bloom species; E-mail: xthan@ms.qdio.ac.cn

之交和夏秋之交为高峰期^[8]。在大连湾,中肋骨条藻多在夏末秋初形成优势种,并引发赤潮,发生赤潮时,细胞密度为 $4.3\times 10^3\sim 7.2\times 10^5$ 个/ml^[9]。长江口处于赤潮临界状态的中肋骨条藻密度为 7×10^6 个/m³,约占浮游植物总量的96%^[3],长江口外围生态实验中,中肋骨条藻赤潮密度最高达 2.93×10^7 个/L,占群落生物量的99.9%^[10]。程兆第等对福建沿海的骨条藻属下4种:中肋骨条藻*Skeletonema costatum*、江河骨条藻*S. potamos*、曼氏骨条藻*S. munzelii*、热带骨条藻*S. tropicum*进行了形态及亚显微结构的观察和描述^[11]。郭玉洁也分别对以上4种骨条藻进行了细致的形态描述^[12]。史亚波根据形态和生理生态特征差异,描述了中肋骨条藻*S. costatum*和热带骨条藻*S. tropicum*的形态特征,前者属于广温广盐种,后者属于高温高盐种^[13]。在实际调查研究中也发现分布在渤、黄、东海以及南海的中肋骨条藻,其形态、个体大小、繁殖盛期和季节分布都有不同,对于该种属是否存在亚种、变种和不同的生态型尚不明白,所以针对我国沿海的中肋骨条藻,利用形态、生理生态特征和分子生物学相结合的方法进行种间和种下分类研究,以期为中肋骨条藻赤潮研究提供基础科学依据,同时为研究微藻生物适应性和生物多样性提供基础性研究。

1 实验材料及方法

1.1 实验材料

东海株中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)采自东海,厦门大学高亚辉提供,胶州湾株中肋骨条藻由中国科学院海洋研究所藻种室提供。实验室内培养温度 18 ± 1 ℃,光照3500~3800lx,光暗比为12:12,f/2培养液中培养。

1.2 实验方法

1.2.1 形态观察 BH-2型光学显微镜(OLYMPUS, Japan)观察东海株与胶州湾株的中肋骨条藻细胞形态。

1.2.2 生长率测定 通过显微计数测定两株中肋骨条藻的生长曲线,每天定量吸取200μl藻液,置于200μl细胞计数板(Wildlife supply company, American)上,加入适量鲁哥氏液固定,实验取3组平行样。

$$\mu = \ln(C_2/C_1)/(t_2 - t_1)$$

式中, C_2 为 t_2 时的细胞密度, C_1 为 t_1 时的细胞密度。

1.2.3 营养盐对藻细胞生长的影响 两株中肋骨条藻在f/2培养液中进行培养^[14],达到指数生长期后,分别接种到N:P为16:1,8:1,32:1的培养液中(编号依次为A、B、C);N、P浓度(海水中的终浓度)分别为 $136\mu\text{mol/L} : 8.8\mu\text{mol/L}, 68\mu\text{mol/L} : 8.8\mu\text{mol/L}, 272\mu\text{mol/L} : 8.8\mu\text{mol/L}$ 进行培养。最初接种密度为 1.0×10^4 个/ml;培养条件盐度30,培养温度 (18 ± 1) ℃,光照强度3000~3500lx,光暗比L:D=12:12。

1.2.4 RAPD 扩增反应 本实验所用的随机引物为上海博亚生物技术有限公司产品,引物序号为BA1263、BA0065,核糖体小亚基18s rDNA两端引物为上海生工产品,引物序列为(18N1:5'-TCCTGCCAGTAGTCATATGC-3',18N2:5'-TGATCCTTCT/CGCAGGTTTCAC-3')。

反应总体积为25μl,其中buffer 10×2.5μl,MgCl₂(25mmol/L)2.5μl,dNTP Mix(200mmol/L)1.25μl,Tag 酶(北京鼎国)1u,模板DNA 25~50ng,引物10pmol,用Mastercycler gradient 5331型PCR仪(Eppendorf, Germany)进行特异片段扩增。反应程序为94℃预变性5min,94℃变性1min,37℃复性1min,72℃延伸1min,共35个循环,完成最后一个循环后,72℃延伸5min。扩增产物在含0.05%溴化乙锭的1%琼脂糖凝胶中电泳,电泳缓冲液为1×TAE,恒压2V/cm,电泳时间1.5h,紫外透射仪上观察并拍照记录。

2 结果

2.1 形态特征比较

扫描电镜下观察两株骨条藻细胞亚显微结构(见图1、图2):细胞呈短圆柱形,壳面圆,凸如冠状,东海株细胞直径4μm左右,胶州湾株5μm左右;壳面边缘1圈管状突起(支持突),支持突的断面扁,呈管状,中空,其离心端膨大,与邻细胞的突起一一相接,对接点整齐,连接结明显,将两细胞的突起连接为环状排列,支持突外管等长,东海株的支持突为9条,胶州湾株为10~11条;支持突基部为1圈泌胶孔道;壳面上具有向外凸起的放射肋,并连成网状,网孔呈圆形或不规则的多边形;壳面中央有唇形突,靠近壳面中央。

光学显微镜下观察骨条藻细胞形态特征为:东海株藻细胞盘状或圆柱状,每细胞有4个,细胞间隙较小,以长链状群体浮游生活,有时链长在50~100个细胞,壳面凸起,壳面边缘支持

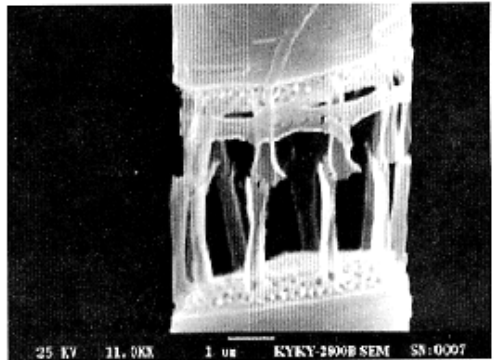


图1 扫描电镜下东海株

Fig.1 Cells of *Skeletonema* from East China Sea under SEM

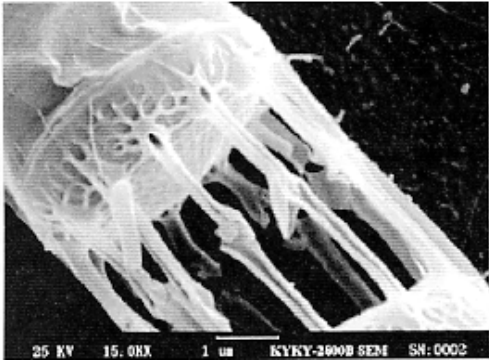


图2 扫描电镜下胶州湾株

Fig. 2 Cells of *Skeletonema* from Jiaozhou Bay under SEM

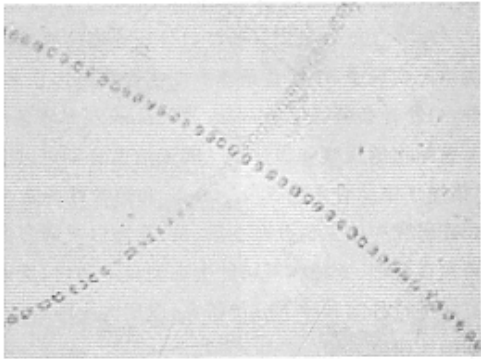


图3 光学显微镜下东海株(10×40)

Fig. 3 Cells of *Skeletonema* from East China Sea under LM(10×40)

突相互连接,在光镜下清晰可见,一般都是多个细胞连接成链状,细胞直径通常为4~7 μm ;胶州湾株藻细胞呈圆柱状,色素体4~8个,细胞间隙较大,以螺旋链状群体生活,单细胞个数20~60。显微镜下观察东海株骨条藻(图3、图4)和胶州湾株骨条藻形态特征(图5、图6)区别见表1。

根据形态观察和亚显微结构观察,并依据郭玉洁^[12]、齐雨藻^[15]、程兆弟^[11]、金德祥^[16]、Hasle G R^[17]对骨条藻属下不同种类的描述,鉴定东海株和胶州湾株藻种都为中肋骨条藻。

2.2 不同N:P比对不同地理株中肋骨条藻生长的影响

不同营养盐浓度下两株藻的生长曲线见图7。实验结果表明,胶州湾株中肋骨条藻在N:P为16:1(A1)时生长较好,最大细胞密度达到2.3 $\times 10^5$ 个/ml;N:P为8:1(C1组)时,同样在第5天达到最大细胞密度值2.2 $\times 10^5$ 个/ml;N:P为32:1(B1组)时,最大细胞密度值为2.0 $\times 10^5$ 个/ml。东海株中肋骨条藻在3种N:P比时的生长趋势与胶州湾株中肋骨条藻相似,N:P为16:1(A2组)时生长最好,达到最大细胞密度1.7 $\times 10^5$ 个/ml,N:P为8:1(C2组)时,最大细胞密度为1.6 $\times 10^5$ 个/ml,N:P为32:1(C3组)时,细胞密度最大为1.5 $\times 10^5$ 个/ml。

表1 显微镜下东海株和胶州湾株骨条藻形态比较

Table 1 Morphological comparison of two strains *Skeletonema* under microscope

地理株 Strain	东海 East China Sea	胶州湾 Jiaozhou Bay
细胞形状和大小 ^①	盘状或圆柱状,直径4~7 μm ^⑥	短圆柱状,直径5~10 μm ^⑪
壳面上支持突 ^②	较短,9条 ^⑦	较长,10~11条 ^⑫
细胞间隙 ^③	较小 ^⑧	较大 ^⑬
色素体数目及分布 ^④	2~4个色素体,位于壳面各向一面弯曲 ^⑨	4~8个色素体,在细胞内呈颗粒状 ^⑭
群体细胞数及链状 ^⑤	50~100个单细胞,直链状 ^⑩	20~60个单细胞左右,螺旋链状 ^⑮

① Cell figure and size, ② Marginal struttred processed, ③ Marginal processed, ④ Chloroplasts, ⑤ Cells in the colony and chain, ⑥ Discal and columnd, diameter is 4 to 7 μm , ⑦ short, nine, ⑧ short, ⑨ 2 to 4, close to valve and curving, ⑩ 50 to 100 cells, straight chain, ⑪ short columnd, diameter is 5 to 10 μm , ⑫ Long, 10 to 11, ⑬ long, ⑭ 4 to 8, studded in the cell, ⑮ 20 to 60 cells, helix chain

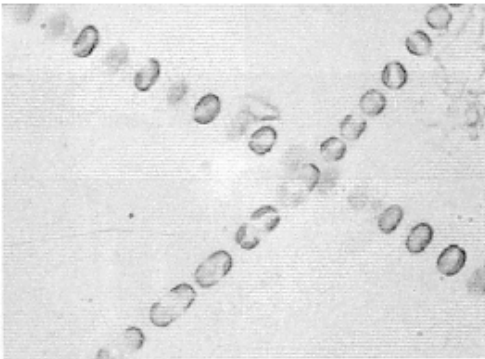


图4 光学显微镜下东海株(10×100)

Fig. 4 Cells of *Skeletonema* from East China Sea under LM(10×100)

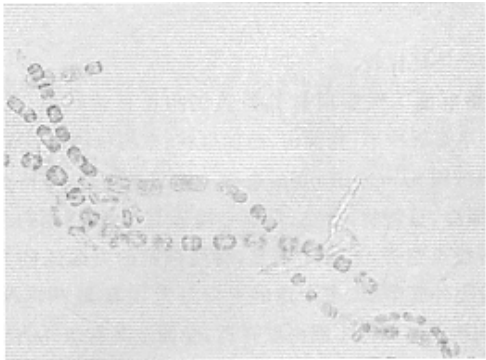


图5 光学显微镜下胶州湾株(10×40)

Fig. 5 Cells of *Skeletonema* from Jiaozhou Bay under LM (10×40)

万方数据

通过对3个不同N:P比例下胶州湾株指数生长期生长率的计算,得出A1、C1、B1组最大生长率(d^{-1})依次降低分别是

1.66、1.65、1.63 d⁻¹。东海株指数生长期时 A2、C2、B2 组其最大生长率(d⁻¹)依次降低,分别是 1.53、1.50、1.45(见表 2)。

2.3 N : P 比为 16 : 1 时东海株与胶州湾株的中肋骨条藻的生长特性比较

表 2 不同 N : P 比例条件下两地理株中肋骨条藻的生长率(d⁻¹)

Table 2 Growth rate of two strains *S. costatum* with different N : P ratio(d⁻¹)

藻株 Strain	N : P		
	16 : 1(A)	32 : 1(B)	8 : 1(C)
胶州湾株中肋骨条藻(1) Jiaozhou Bay strain <i>S. costatum</i>	1.66	1.63	1.65
东海株中肋骨条藻(2) The East China Sea strain <i>S. costatum</i>	1.53	1.45	1.50

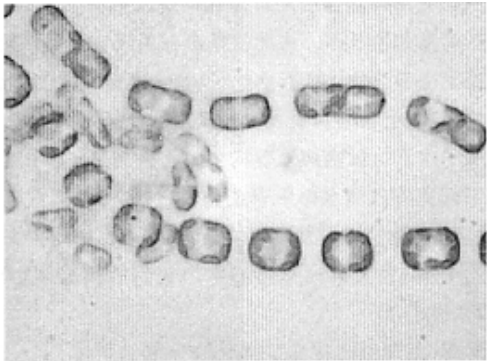


图 6 光学显微镜下胶州湾株(10×100)

Fig. 6 Cells of *Skeletonema* from Jiaozhou Bay under LM (10×100)

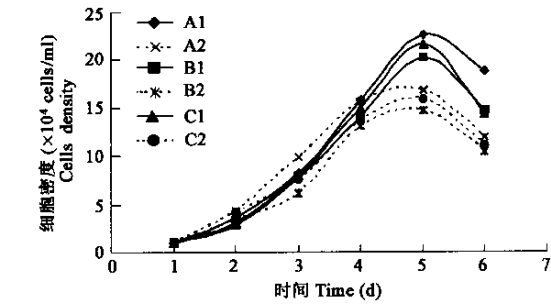


图 7 两不同地理株中肋骨条藻在不同 N:P 比例下的生长曲线
Fig. 7 Growth curves of two strains *S. costatum* with different N : P ratio
(A1、B1、C1 胶州湾株 Jiaozhou Bay strain; A2、B2、C2 东海株 The East China Sea strain)

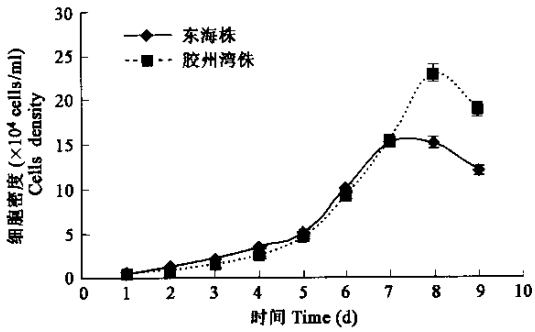
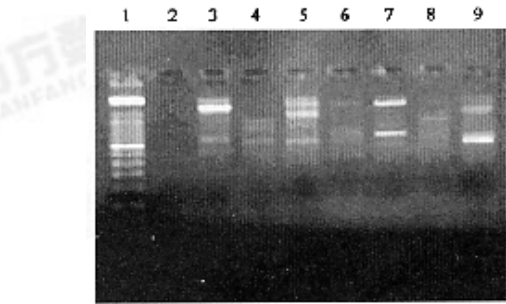


图 8 两不同地理株中肋骨条藻生长曲线
Fig. 8 Growth graph of two strains *S. costatum*

从 N : P 比为 16 : 1 时的生长曲线可以得到两地理株的生长周期、最大藻细胞密度以及最大生长率都不同(图 8)。在相同环境条件(N : P=16 : 1,盐度 30,培养温度 18℃±1℃,光照强度 3000~3500lx,光暗比 L : D=12 : 12)和同样接种密度(1×10⁴ 个/ml)条件下,在培养的第 5 天开始进入指数生长期。东海株指数生长期为 3d,达到最大密度为 1.5×10⁵ 个/ml,最大生长率为 1.66d⁻¹;胶州湾株指数生长期较长,可维持 5 天,达到最大密度为 2.4×10⁵ 个/ml,最大生长率为 1.53 d⁻¹,并很快进入衰亡期。通过单因子方差分析,两株藻的最大生长率呈显著差异(P=0.002<0.01)。

2.4 两不同地理株中肋骨条藻的 DNA 多态性比较

2.4.1 RAPD 随机扩增多态性比较 应用 10 个随机引物对两株藻进行了 RAPD 反应,筛选出两个随机引物,分别为 BA1263(ACGAAACGGG)、BA0065(AGGCGTAAG)。两地理株的扩增条带表现出不同的多态性,随机引物 BA1263 扩增东海株全 DNA,无随机扩增的 DNA 条带出现,而以胶州湾株总 DNA 为模板,引物 BA1263 的随机扩增结果为多条 DNA 带谱。随机引物 BA0065 对两株藻进行随机扩增仍得到了不同的 DNA 多态性。重复对模板 DNA 进行随机引物扩增实验,仍得出同样的结果(图 9 中 2、3、4、5 列)。以两地理株中肋骨条藻的小亚基片段为模板进行的 RAPD 随机扩增,同样表现出不同的 DNA 多态性(图 9 中 6、7、8、9 列)。



1. marker (分子量范围是 100~1500bp, 3000bp) marker (molecular weight is 100 to 1500bp and 3000bp); 2, 4, 6, 8. 以东海株总 DNA 为模板 DNA template is total DNA of East China Sea strain; 3, 5, 7, 9. 以胶州湾株中肋骨条藻总 DNA 为模板 DNA template is total DNA of Jiaozhou Bay strain

图 9 两地理株中肋骨条藻 RAPD 电泳结果
Fig. 9 Electrophoresis for two strains *S. costatum*

光学显微镜观察结果表明东海株和胶州湾株中肋骨条藻在形态大小、色素体形状及个数、链状细胞形态以及链上细胞个数都有很大的区别。

氮磷比对两地理株中肋骨条藻的生长都有明显的作用,两株中肋骨条藻在 $N:P=16:1$ 的水体中生长最好,得到较高的最大生长密度和生长率。中肋骨条藻在氮磷比高的水体中的生长状态较氮磷比低的水体为好,表明在富营养化条件下,氮是中肋骨条藻发生赤潮的重要影响因子。这一实验结果与刘东艳^[18]所得到的实验结果相吻合。胶州湾株中肋骨条藻在不同 $N:P$ 条件下,得到的生长率和最大生长密度均高于东海株中肋骨条藻,表明胶州湾株的富营养耐受性要高于东海株。

从分子水平上区别两地理株中肋骨条藻是一种比较灵敏和先进的技术。Medlin L K^[19]通过小亚基核糖体DNA 序列分析了 4 种不同地理区域水体中骨条藻,识别了一株区别于中肋骨条藻的新种,定名为拟中肋骨条藻 *Skeletonema pseudocostatum*。本文通过 RAPD 实验以及重复实验,初步得出两地理株在 DNA 多态性上存在区别的结果,以其全 DNA 为模板进行 RAPD 扩增条带有差异,并且同时以特异扩增得到的核糖体小亚基片段为模板进行的 RAPD 随机扩增,同样表现出不同的 DNA 多态性。

从形态、生理生态特征以及 RAPD 随机扩增 DNA 多态性分析结果初步表明,两地理株的中肋骨条藻应该属于该种下的不同亚种或变种,是在不同的地理环境影响下出现的物种变化以及表现出不同的物种适应性,这对于研究微藻生物适应性和生物多样性提供了基础性研究。

References:

- [1] Zou J Z, Dong L P. Research on red tide species in China Sea; Resarch on physiological and ecological feature of *Skeletonema costatum*. Paper collection of symposium on red tide, Beijing; Marin Press, 1989. 8~9.
- [2] Zou J Z, Dong L P. Research on red tide species in China Sea: Proliferation competition and species succession of red tide species in Bohai Bay. *Paper collection of symposium on red tide*, Beijing; Marine Press, 1989. 10~11.
- [3] Hong J C, Huang X Q, Jiang X S. *Skeletonema costatum* red tide in Changjiang River estuarine area. *Marin Environmental Science*, 1992, **11**(3):75~79.
- [4] Hong J C, Huang X Q, Jiang X S, *et al.* Analysis of environmental factors during occurrence of *Skeletonema costatum* red tide in Changjiang River estuarine——The nutrient state. *Oceanol. Limnol. Sinica*, 1994, **25**(2):179~184.
- [5] Hong J C. Investigation report of the *Skeletonema costatum* red tide in Changjiang River estuarine——Study on phytoplankton community composition and cell morphology. *Oceanol. Limnol. Sinica*, 1994, **25**(6):591~595.
- [6] Huo W Y, Yu Z M, Zou J Z, *et al.* Outbreak of *Skeletonema costatum* red tide and the its relations to environmental factors in Jiaozhou Bay. *Oceano. Liminol. Sinica*, 2001, **32**(3):311~318.
- [7] Wei G F, Wang Z D, Lian J S. Succession of dominant phytoplankton in Daya Bay and Dapeng Bay sea waters in spring. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, **23**(11):2285~2292.
- [8] Zou J Z, Dong L P, Qin B P. Preliminary analysis of red tide and eutrophication in Bohai Bay. *Marine Environmental Science*, 1983, **2**(2):41~45.
- [9] Wang H Q, Zhang Y B. Analysis of red tide species and law in Dalian Bay. *Marine Environmental Science*, 1991, **11**(2):28~33.
- [10] Li R X, Zhu M Y. Responses of phytoplankton on phosphate enrichment in mesocosms. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, **21**(4):603~607.
- [11] Cheng Z D, Gao Y H, Liu S C. *Micro diatom in sea water in Fujian*. Beijing; Marine Press, 1993. 10~12.
- [12] Guo Y J, Qian S B. *Flora algarum marinarum sinicarum*. Bacillariophyta (Centricae). Beijing; Science Press, 2003. 216~224.
- [13] Shi Y B. Preliminary analysis of biological characteristic of *Skeletonema* in Jiaozhou Bay and *Skeletonema* speices in sea water in China. *Abstracts of the 2th marine environmental and water environmental symposium*. Beijing; Marine Press, 1992.
- [14] Guillard R L, Ryher J H. Studis of marine planktonic diatom 1. *Cyclotella nana* H. And *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Phycol.*, 1962, **17**:309~314.
- [15] Qi Y Z, Qian F, Chen J F. Taxonomy of harmful algae bloom species. In: Qi Y Z ed. *Harmful algae bloom in China sea*. Beijing; Science Press, 2003. 34~37.
- [16] Jin D X, Chen J H, Huang K G. *Phytoplankton-diatoms in China Sea*. Shanghai; Shanghai Science and Technology Press, 1964. 63~65.
- [17] Hasle G R and Tomas C R. Marine Diatoms. In: Tomas C R ed. *Identifying marine phytoplankton*. San Diego; Academic Press, 1997. 43~45.
- [18] Liu D Y, Sun J, Chen Z T, *et al.* Impact of different nitrogen and phosphate retio on growth feature of *Skeletonema costatum*. *Trans. Oceanol. Limnol.*, 2002, (2):39~44.
- [19] Medlin L K, Hood H J, Stickel S, *et al.* Morphological and genetic variation within the diatom *Skeletonema costatum* (Bacillariophyta): evidence for a new species. *Skeletonema pseudocostatum*. *J. Phycol.*, 1991, **27**: 514~524.

参考文献:

[1] 邹景忠,董丽萍. 中国近海赤潮生物研究 I. 中肋骨条藻生理生态特性研究. 赤潮研究学术讨论会论文集, 北京:海洋出版社,1989.

[2] 邹景忠,董丽萍. 中国近海赤潮生物研究 I. 渤海湾赤潮生物种类演替及其增殖竞争. 赤潮研究学术讨论会论文集, 北京:海洋出版社, 1989.

[3] 洪君超,黄秀清,蒋晓山. 长江口赤潮多发区的一次中肋骨条藻赤潮现象观察. 海洋环境科学,1992,11(3):75~79.

[4] 洪君超,黄秀清,蒋晓山,等. 长江口中肋骨条藻赤潮发生过程环境要素分析——营养盐状况. 海洋与湖沼,1994,25(2):179~184.

[5] 洪君超. 长江口中肋骨条藻赤潮发生全过程调查报告——浮游植物群落结构及细胞形态研究. 海洋与湖沼,1994,25(6):591~595.

[6] 霍文毅,俞志明,邹景忠,等. 胶州湾中肋骨条藻赤潮与环境因子的关系. 海洋与湖沼,2001,32(3):311~318.

[7] 韦桂峰,王肇鼎,练健生. 大亚湾大鹏澳水域春季浮游植物优势种的演替. 生态学报,2003,23(11):2285~2292

[8] 邹景忠,董丽萍,秦保平. 渤海湾富营养化和赤潮问题初步探讨. 海洋环境科学,1983,2(2):41~45.

[9] 王惠卿,张永波. 大连湾赤潮生物及其规律的探讨. 海洋环境科学,1991,11(2):28~33.

[10] 李瑞香,朱明远. 围隔生态系内浮游植物对富磷的响应. 生态学报,2001,21(4):603~607.

[11] 程兆第,高亚辉,刘师成. 福建沿海微型硅藻. 北京:海洋出版社,1993. 10~12.

[12] 郭玉洁,钱树本. 中国海藻志. 硅藻门(中心纲). 北京:科学出版社,2003. 216~224.

[13] 史亚波. 中国沿海骨条藻种类及胶州湾骨条藻生物学特征的初步探讨. 全国第二届海洋环境与水环境学术讨论会论文摘要, 北京:海洋出版社,1992.

[15] 齐雨藻,钱峰,陈菊芳. 赤潮生物的分类. 见:齐雨藻主编. 中国沿海赤潮. 北京:科学出版社,2003. 34~37.

[16] 金德祥,陈金环,黄凯歌. 中国海洋浮游硅藻类. 上海:上海科学技术出版社,1964. 63~65.

[18] 刘东艳,孙军,陈宗涛,等. 不同氮磷比对中肋骨条藻生长特征的影响. 海洋湖沼通报,2002,(2):39~44.