

充气 and 搅动对球形棕囊藻生长及囊体形成的影响

王 艳^{1,*}, 王小冬^{2,1}, 李韶山^{3,*}

(1. 暨南大学 赤潮与水环境研究中心, 广州 510632; 2. 中国海洋大学 环境科学与工程学院, 青岛 266003;

3. 华南师范大学生命科学学院, 广州 510631)

摘要:球形棕囊藻生活史中包含游离单细胞和球形囊体两种生活形态,但是实验室中培养的球形棕囊藻经常无法形成囊体。研究通过向培养基中泵入过滤空气,以及给培养基提供不同程度的搅动,研究了充气 and 搅动对球形棕囊藻生长及囊体形成的影响。充气 and 搅动均显著提高了囊体的数量,并且提高了囊体内细胞的生长速率。但是充气对于囊体直径及囊体内细胞密度并无显著影响。搅动则明显的提高了囊体直径和囊体内细胞数量。然而,尽管充气以及搅动有利于球形棕囊藻囊体的形成,但是培养的囊体直径依然小于自然海区中囊体的大小。

关键词:球形棕囊藻;囊体形成;充气;搅动

Effects of air bubbling and turbulence on the growth and colony-form of *Phaeocystis globosa* scherffel

WANG Yan^{1,*}, WANG Xiaodong^{2,1}, LI Shaoshan^{3,*}

1 Research Center for Harmful Algae and Aquatic Environment, Jinan University, Guangzhou 510632, China

2 College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China

3 College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China

Abstract: *Phaeocystis globosa* scherffel has a polymorphic life cycle alternating between free-living cells and colonies. *Phaeocystis* usually lacks the abilities to form the colonies under lab-controlled conditions. In this work, we investigated the effects of air bubbling and turbulence on the growth and colony-forming of *P. globosa*. Both air bubbling and turbulence favored *P. globosa* to form more colonies. However, only turbulence greatly enhanced the colony size and colonial cell numbers, whereas air bubbling did not exhibit significant impacts. Nonetheless, the colonies developed in the lab still had lower diameters than the natural ones.

Key Words: *Phaeocystis globosa*; colony-forming; air bubbling; turbulence

棕囊藻属 (*Phaeocystis*) 是海洋中分布最为广泛的浮游植物种属之一,已经确定的 6 个种中,球形棕囊藻 (*P. globosa*),波切棕囊藻 (*P. pouchetii*) 以及南极棕囊藻 (*P. antarctica*) 可分别在两极、温带和热带海区经常引发大规模的水华^[1-2],改变了食物链的功能和结构,进而影响全球生物地化循环过程及全球气候变化^[3-4]。这 3 种棕囊藻均具有复杂的异型生活史,存在两种截然不同的生活形态-游离单细胞形态和囊体形态,并且能够在两种形态间自由交替。游离单细胞直径一般为 3—9 μm ,具有两根等长的鞭毛,而囊体的直径可以达到几个 mm^[5-6],我国南海发现的球形棕囊藻囊体直径甚至可以达到 3cm,是目前发现的最大的棕囊藻囊体^[7-9]。棕囊藻囊体成分主要为多糖,囊体外被透明、坚韧并且具有微弱的弹性,内含几个到几千个细胞,通过粘液物质彼此微弱的链接,并且均匀的分布于囊体外被的内表面,使得囊体呈现出“中空”的结构^[10]。囊体的形成

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30670156);高等学校博士学科点专项科研基金资助项目(20070574003);973 国家重点基础研究发展计划资助项目(2010CB428702);国家自然科学基金-广东省联合基金重点资助项目(U0733006);国家科技部 863 资助项目(2006AA09Z178)

收稿日期:2009-07-07; 修订日期:2009-12-01

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lishsh@scnu.edu.cn; yanwang7018@163.com

有利于棕囊藻抵御病毒、细菌以及浮游动物的摄食,有效地降低了死亡率,被认为是棕囊藻频繁引起水华的原因之一^[3,11],因此研究球形棕囊藻囊体形成的原因及机制具有重要的生态学意义。

棕囊藻形成水华时主要是以囊体的形式存在^[2,4],但是在实验室培养的棕囊藻容易失去形成囊体的能力,而仅仅以单细胞的形态存在,即使形成囊体,囊体的体积也远远小于自然海区发现的物种^[7]。解释这个现象的一个可能原因是:实验室中培养的棕囊藻处于静止的状态,缺乏自然海区中的搅动以及气体的交换。同时棕囊藻如果形成囊体,阻碍了囊体内细胞对于营养的吸收^[12]。如果搅动培养基或者对培养基充气,则能够使得培养基处于流动的状态下,并且提供更多的 CO_2 到培养基中,细胞表面周围的营养和气体迅速更新和交换,有利于浮游植物的生长和繁殖。因此搅动或者充气已经广泛应用于浮游植物的室内培养。Svensen 等发现轻微的搅动有利于浮游植物的生长,而完全静止培养的浮游植物生长率较低^[13]。Jiménez 等研究了充气对于杜氏藻 (*Dunaliella viridis*) 生长的影响,结果证明充气很明显提高了这种藻类的最高细胞密度、生长速率以及光和效率^[14]。但是充气或者搅动对于棕囊藻生长和囊体的形成的影响还缺乏量化的研究。

本文通过对球形棕囊藻的培养基进行充气或者搅动,观察球形棕囊藻单细胞密度、囊体密度、囊体直径以及囊体内细胞的变化,研究充气 and 搅动对球形棕囊藻囊体形成的促进作用。为进一步研究球形棕囊藻的生理生态特性和囊体形成的机制提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 球形棕囊藻藻种的培养

球形棕囊藻 (CCMP1528) 置于盐度为 30 的 f/2 培养基中培养,培养温度为 20°C ,光照强度为 $100 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$,光暗比为 12h:12h。定时更换培养基,使细胞维持在指数生长期。

1.2 球形棕囊藻单细胞收集和接种:

预培养的球形棕囊藻培养液经过孔径为 $10 \mu\text{m}$ 的多聚碳酸酯滤膜无菌条件下过滤,培养液中的囊体留在了滤膜上,滤液中只有单细胞,收集单细胞用于接种。

1.3 实验设置

1.3.1 充气实验

实验采用容积为 1000mL 平底烧瓶,每瓶装有 500mL 的 f/2 培养液用于球形棕囊藻的培养。取等量生长状况良好的单细胞分别接种,使得每瓶的单细胞初始浓度达到 $1 \times 10^3 \text{ cells mL}^{-1}$ 。其中 3 瓶作为实验组,通入过滤空气,通气的速度控制为 $200 \text{ bubbles min}^{-1}$ 。另外 3 瓶作为对照组,不通入空气,培养条件同 1.1。

1.3.2 搅动实验

采用体积为 50mL 的透明塑料离心管,管中装有球形棕囊藻的培养液,初始细胞密度为 $5000 \text{ cells mL}^{-1}$ 。其中 9 个管中加入 1 粒直径为 3mm 的塑料滚珠,9 个管加入 3 粒同样的塑料滚珠,9 个管中不加入塑料滚珠。所有的管口用保鲜膜覆盖后再拧紧管盖,使得离心管内没有气泡的存在。这 27 个离心管固定在浮游植物培养转轮上,旋转培养,转动速度为 $1 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,转动半径为 30cm,塑料滚珠在试管中运动,对培养基产生不同程度的搅动,搅动的强度大小为 3 粒(强搅动和转动) > 1 粒(中搅动和转动) > 0 粒滚珠(仅为转动,无搅动),而另外 9 个离心管静止培养,作为对照,没有任何的搅动和转动。

1.4 取样与测定

实验开始后的第 0、4、6、8、10、12、14、16 天的 10:00 取样,轻轻摇晃烧瓶,使瓶内藻液分布均匀。取 10mL 培养液,加入 4% 的鲁戈氏溶液固定。固定后的样品在 Nikon TS-100 倒置显微镜下,进行单细胞、囊体和囊体内细胞的计数以及囊体直径的测量^[15]。另取 20mL 培养液,GF/F 滤膜真空过滤,滤膜浸泡于 90% 的丙酮中,避光萃取 24h,使用 TD-700 荧光计测量叶绿素含量^[16]。对于搅动实验,实验开始后的第 4、8、12 天的 10:00 取样,分别把不同搅动组的 3 支离心管从转轮上取下,并且取出对照组中的 3 支离心管,加入 4% 的鲁戈氏溶液固定,观察单细胞,囊体和囊体内细胞的生长状况^[15]。

2 结果

2.1 充气实验

2.1.1 充气对单细胞、囊体和叶绿素的影响

充气组与对照组的球形棕囊藻均在第 4 天形成囊体,囊体的密度在第 8 天达到最高值,此时对照组囊体密度为 (522.67 ± 99.57) colonies mL^{-1} ,充气组为 (858.67 ± 241.55) colonies mL^{-1} 。两组中的球形囊体在第 12 天开始破裂,囊体内细胞逐渐减少甚至消失,样品中观察到大量衰退期中的囊体。处于衰退状态的球形棕囊藻囊体,单细胞在囊体上的分布不均匀,或者聚集在囊体的一端。同时还观察到由于单细胞从囊体上逸出而残留的囊体空壳。衰退期的囊体和空壳囊体不再计入囊体的密度,其囊体密度为 0。从第 4 天至第 10 天,充气组的囊体密度始终高于对照组($P < 0.01$, Mann-Whitney Rank Sum Test),因此充气显著促进了球形棕囊藻囊体的形成(图 1 A)。

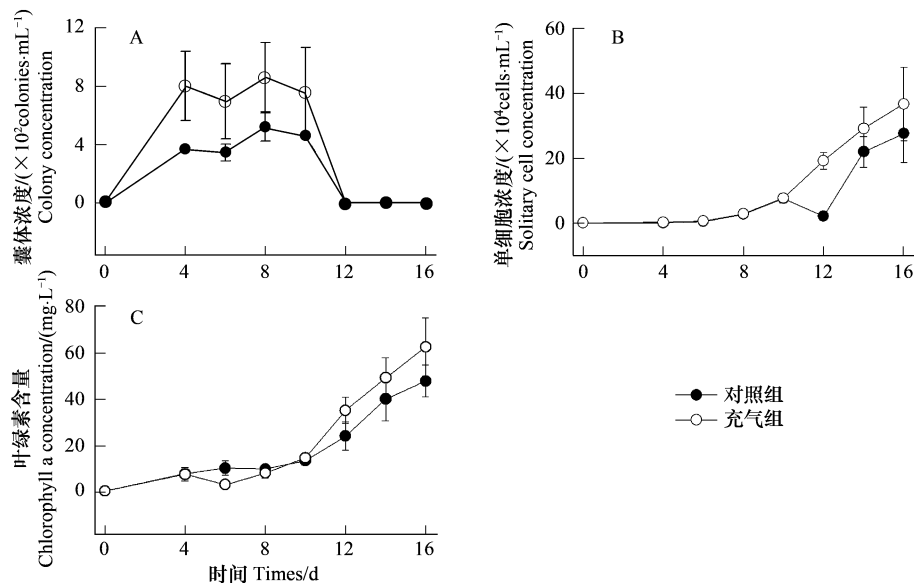


图 1 充气对球形棕囊藻生长和囊体形成的影响

Fig. 1 Effects of air bubbling on the growth and colony forming of *P. globosa*

A: 囊体密度; B: 游离单细胞; C: 叶绿素 a

从培养开始到第 10 天,充气组和对照组之间的游离单细胞密度没有显著性差异($P > 0.05$, t -test)。第 12 天时,充气组中的游离单细胞密度达到 1.92×10^5 cells mL^{-1} ,而对照组中的单细胞密度出现小幅度的下降,密度为 2.1×10^4 cells mL^{-1} ,远低于充气组($P < 0.01$, t -test)。随后各组单细胞密度持续提高,两组中单细胞密度并无差异($P > 0.05$, t -test)。在培养至第 16 天时,对照组和充气组中单细胞密度分别达到 $(2.77 \pm 0.89) \times 10^5$ cells mL^{-1} 和 $(3.67 \pm 1.15) \times 10^5$ cells mL^{-1} ,比起初始密度高出约 300 倍左右(图 1 B)。

叶绿素 a 浓度的变化趋势与单细胞相似,但是充气组中叶绿素 a 并未在第 12 天时出现下降。整个实验过程中,充气组中与对照组中叶绿素 a 含量接近,并没有显著的差异($P > 0.05$, Mann-Whitney Rank Sum Test)。因此充气并未对球形棕囊藻的叶绿素 a 含量产生显著的影响(图 1 C)。

2.1.2 充气对囊体直径和囊体内细胞生长的影响

在第 4 天,充气组中囊体内细胞数量显著高于对照组($P < 0.001$, Mann-Whitney Rank Sum Test),充气组中和对照组中囊体细胞数量分别为 (29.16 ± 11.80) cells colony $^{-1}$ 和 (24.52 ± 8.93) cells colony $^{-1}$,而在第 10 天,这两个值为 (35.51 ± 30.86) cells colony $^{-1}$ 和 (64.99 ± 59.99) cells colony $^{-1}$,充气组低于对照组($P < 0.001$, Mann-Whitney Rank Sum Test)。而在第 6 天和第 8 天时囊体内细胞密度没有显著性差异($P > 0.05$, Mann-Whitney Rank Sum Test)(图 2 A)。囊体直径和囊体内细胞数量趋势稍有不同,充气组中囊体直径在第

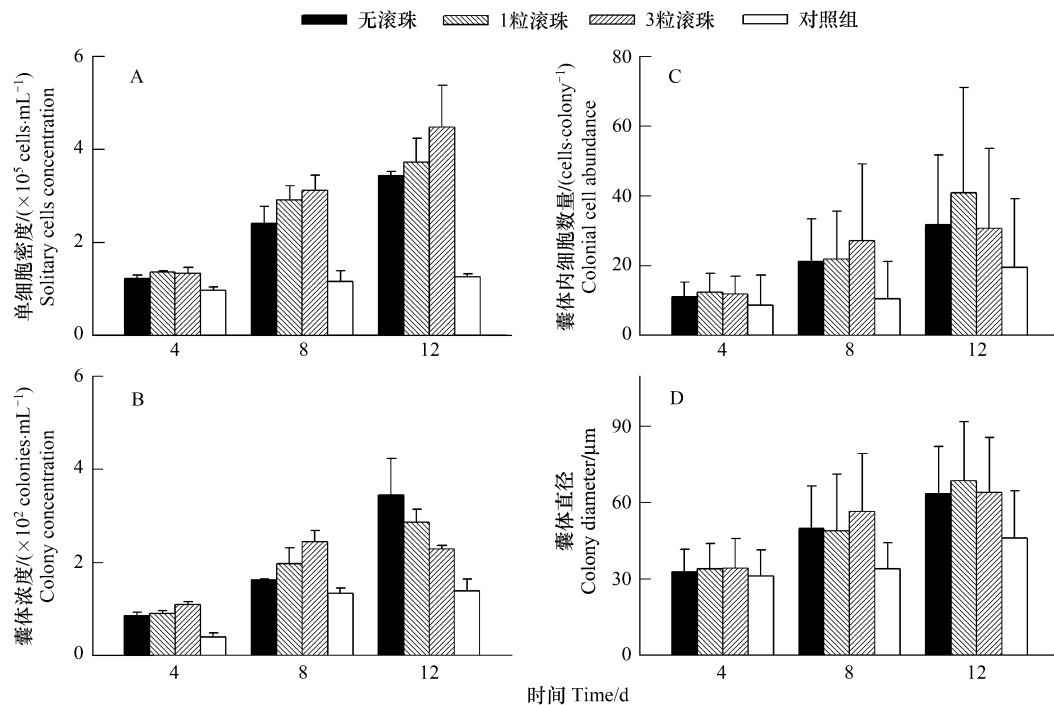


图3 搅动对球形棕囊藻生长和囊体形成的影响

Fig. 3 Effects of turbulence on the growth and colony forming of *P. globosa*

A: 单细胞密度; B: 囊体密度; C: 囊体内细胞数量; D: 囊体直径

有差异 ($P > 0.05$, Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks)。搅动促进了囊体直径的扩大和囊体内细胞数量的增加,但是不同的搅动程度之间并未有差异(图3 C、D)。

根据公式 $\ln(n_t) = \mu \times t + \ln(n_0)$ 计算囊体内细胞和游离单细胞的生长率。第4—12天,无滚珠,1粒滚珠和3粒滚珠各组中的游离单细胞生长率分别为 $0.160, 0.167 \text{ d}^{-1}$ 和 0.183 d^{-1} ,而对照组中只有 0.077 d^{-1} ,显著低于各个搅动组,说明搅动促进了单细胞的分裂和生长。计算囊体内细胞的生长率,无滚珠、1粒滚珠和3粒滚珠中分别为 $0.288, 0.309 \text{ d}^{-1}$ 和 0.285 d^{-1} ,而对照组中为 0.248 d^{-1} ,搅动各组均稍高于对照组,搅动同样提高了囊体内细胞的生长率。

3 讨论

3.1 充气 and 搅动对于球形棕囊藻生长的影响

充气 and 搅动对于囊体形成的积极作用,主要体现在2个方面。第一,充气 and 搅动均促进了更多球形棕囊藻囊体的形成,实验组中囊体密度高于对照组。搅动显著的提高了棕囊藻囊体的直径和囊体内细胞密度,并且不同强度的搅动都会对囊体的生长产生正面的影响。比较而言,充气只在初始时期对囊体的大小和囊体内细胞的生长影响显著,充气组中囊体的直径在囊体形成初始时高于对照组,这可能在培养的后期,对照组中囊体同时也在快速增长,导致两组中差异减少。

充气 and 搅动对于囊体生长的第2个影响是加速了囊体内细胞的生长。棕囊藻的囊体内细胞数量和囊体直径是相关的^[17],但是本次试验中的第10天,充气组中囊体数量低于对照组,而此时囊体的直径却高于对照组。考虑到充气后囊体内细胞生长率高于单细胞,那么实验组中囊体内细胞可能先于对照组老化,说明它们生长速率快,因而过早的消耗掉营养盐,导致囊体内细胞溢出或消散。尤其值得注意的是,在搅动试验中,囊体内细胞的生长率甚至高于游离单细胞的生长率。这个结果与之前的 Jakobsen 和 Tang 的研究结果正好符合^[15],在他们的实验中,球形棕囊藻的培养过程中也提供了搅动,这些结果都充分说明了搅动不仅有利于囊体内细胞的生长,同时也提高了游离单细胞的密度和生长速率,说明培养过程中的搅动对于棕囊藻的生长具

4 天显著大于对照组 ($P < 0.001$, Mann-Whitney Rank Sum Test), 两组中囊体的平均直径分别为 $(72.72 \pm 17.50) \mu\text{m}$ 和 $(64.58 \pm 16.15) \mu\text{m}$ 。但是随着囊体的持续长大, 两组中囊体直径在此后几天内相似 ($P > 0.05$, Mann-Whitney Rank Sum Test), 没有显著差异 (图 2 B)。

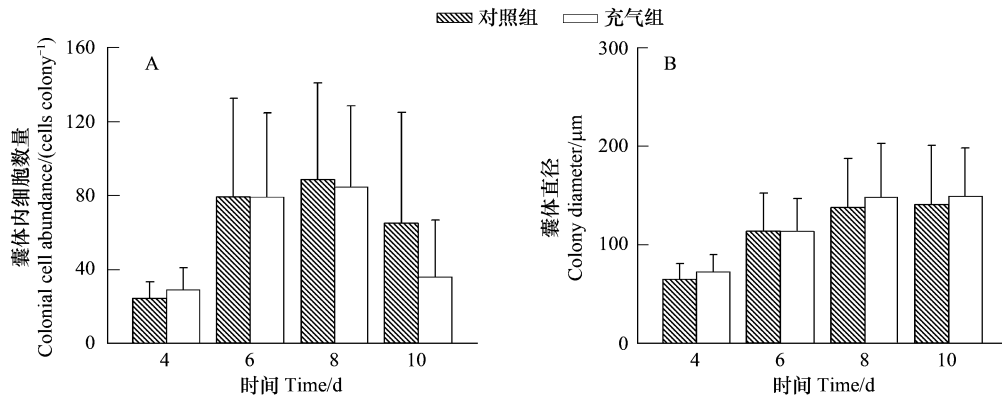


图 2 充气对球形棕囊藻囊体直径和囊体内细胞数量的影响

Fig. 2 Effects of air bubbling on the diameter and cell abundance of *P. globosa* colonies

A: 囊体细胞数量; B: 囊体直径

根据公式 $\ln(n_t) = \mu \times t + \ln(n_0)$, 计算从第 4—8 天囊体内细胞的生长率以及游离单细胞的生长速率^[16]。对照组和充气组中分别为 0.32 d^{-1} 和 0.40 d^{-1} ($P < 0.05$, t -test), 充气组稍高于对照组, 说明充气有利于囊体内细胞的分裂和生长。对于游离单细胞的生长率, 对照组和实验组中分别为 0.67 d^{-1} 和 0.68 d^{-1} , 两组没有显著性差异 ($P > 0.05$, t -test)。说明充气提高了囊体内细胞的生长速率, 但是对游离单细胞的生长影响不显著。

2.2 搅动对于囊体形成的影响

第 4 天, 1 粒滚珠组中 (中等程度搅动和转动) 和 3 粒滚珠组中 (强搅动和转动) 单细胞密度显著高于无滚珠组 (仅转动无搅动) 和对照组 (无转动和搅动), 各组中单细胞密度均低于 $2 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ 。当生长到第 8 天时, 所有转动组中单细胞密度均高于对照组 ($P < 0.01$, one way ANOVA), 无滚珠组中细胞密度升高, 与 1 粒滚珠和 3 粒滚珠组中相似 ($P > 0.05$, One Way ANOVA)。第 12 天时各组中细胞密度和第 8 天变化趋势相似, 3 粒滚珠组中单细胞达到 $(4.47 \pm 0.90) \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$, 1 粒滚珠和无滚珠也分别达到 $(3.72 \pm 0.51) \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ 和 $(3.43 \pm 0.089) \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$, 而对照组中只有 $(1.26 \pm 0.071) \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$, 低于各搅动和转动组 ($P < 0.01$, one way ANOVA)。搅动培养基显著提高了单细胞的生长 (图 3A)。

囊体的生长与单细胞有所不同。3 粒滚珠组在第 4 天时的囊体密度最高, 为 $(1.09 \pm 0.070) \text{ colonies mL}^{-1}$, 同时无滚珠组和 1 粒滚珠组均高于对照组 ($P < 0.001$, one way ANOVA)。但是到了第 8 天, 对照组中囊体密度增加, 达到 $(1.34 \pm 0.11) \text{ colonies mL}^{-1}$, 对照组与无滚珠组及 1 粒滚珠组之间未有显著差异, 只有 3 粒滚珠组中囊体密度依然高于对照组。第 12 天时, 无滚珠组中和 1 粒滚珠组中囊体密度高于对照组, 而 3 粒滚珠组中囊体密度下降, 只有 $(2.29 \pm 0.07) \text{ colonies mL}^{-1}$, 与对照组相比没有显著性差异 ($P > 0.05$, one way ANOVA)。说明搅动促进了囊体的形成和囊体数量的增加, 尽管不同强度的搅动对囊体的生长的影响有所不同 (图 3B)。

囊体内细胞密度和囊体直径两者之间变化趋势非常相似。囊体于第 4 天刚形成时, 搅动各组和对照组相比, 囊体内细胞密度和囊体直径并未有显著区别 ($P > 0.05$, Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks)。而在第 8 天, 各个搅动组中的囊体细胞密度和囊体直径全部高于对照组 ($P < 0.01$, one way ANOVA), 但是 3 个搅动组之间并无差异 ($P > 0.05$, Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks)。第 12 天, 对照组中的囊体细胞密度和直径也为最低 ($P < 0.01$, one way ANOVA), 各个搅动组之间也同样没

有促进效应。

3.2 游离单细胞、囊体和总叶绿素 a 含量的关系

在充气试验中,充气组中囊体数量显著高于对照组,而囊体内细胞含量与对照组相似,说明所有囊体内细胞数量应该高于对照组,这意味着充气组中有更多的细胞被包含在囊体之内。然而两组的游离单细胞密度没有显著差异(排除第 12 天)。因此在充气组中,囊体内细胞数量和游离单细胞数量的总和应该高于对照组,但是两者之间的叶绿素 a 含量依然没有差异。导致这个现象的产生可能与囊体的构建有关。

球形棕囊藻囊体由囊体内的细胞分泌产生,这样细胞中的一部分碳转变为多糖,参与了囊体的构建,而随着囊体的生长,囊体内细胞需要不断的产生多糖来维持囊体的结构。据估计,囊体内的细胞的生物量有 10%—35% 被消耗于囊体的建设上^[17],而 Janse 等认为大约 40% 多的生物量被消耗在囊体的构建上^[18]。因此囊体内细胞本身的生物量减少,即使囊体数量很多,但是对叶绿素 a 的贡献相对较低,总叶绿素 a 含量主要取决于游离单细胞的叶绿素 a 含量。而由于充气对于游离单细胞的生长没有显著的影响,因此两组中叶绿素 a 含量差异并不显著。通过对两组中所有叶绿素 a 含量和游离单细胞数量以及囊体内细胞数量(囊体内平均细胞数量×囊体密度)分别回归,结果(图 4)显示,叶绿素 a 含量与游离单细胞密度回归后的斜率为 5.72,远远高于与囊体内单细胞的 0.74,因此球形棕囊藻的总叶绿素 a 含量取决于游离单细胞的叶绿素 a 含量。

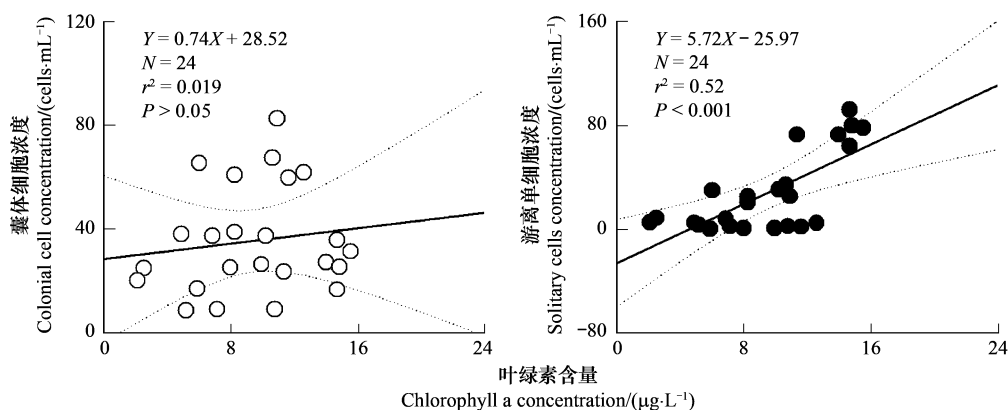


图 4 叶绿素 a 含量和囊体内细胞数量以及游离单细胞数量的关系

Fig. 4 Linear regression of Chlorophyll a versus solitary cell number and colonial cell abundance of *Phaeocystis globosa*

3.3 室内培养和现场的差异

本次试验中,充气后的囊体直径范围只有 50—250 μm ,而水华爆发时,现场发现的囊体直径一般为几个毫米,最高达到 3 cm^[2,7]。在实验室中,即使对培养基进行充气从而产生微量的搅动并更新 CO_2 ,但是这些措施只能得到更高密度的囊体,而并没有使得囊体直径达到自然海区中的囊体大小。另外一个值得注意的现象是:在实验室培养过程中,游离单细胞数量都很高,本次试验达到了 $4 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$,如此高的游离单细胞密度在现场采样观察中从未报道过,现场棕囊藻水华时主要以囊体形式出现^[4],单细胞密度很低甚至不出现^[2]。球形棕囊藻囊体体积的降低可能与摄食有关,自然海区中,棕囊藻囊体的形成被认为是一种防御机制^[14,19]。由于游离单细胞体积小,很容易被浮游动物摄食,死亡率较高^[19]。当囊体形成后,由于尺寸的不匹配和囊体坚韧的外被存在,有效地抵制了浮游动物的摄食,降低了死亡率。浮游动物的摄食行为可以产生某些化学信息,从而引发棕囊藻囊体的形成和体积的长大^[20-21]。尽管囊体的形成提供了保护的途径,但是囊体的构建需要耗费相当的能量,甚至降低了囊体内单细胞的生物量,这在现场中对比起由于摄食引起的死亡率,生物量的降低是值得的^[20,19]。但是在实验室培养中由于缺少摄食者,囊体的形成则失去了抵御的意义。这样棕囊藻可以把更多的物质和能量用于单细胞的生长,而没有必要用于囊体的构建。

References:

- [1] Medlin L K, Zingone A. A taxonomic review of the genus *Phaeocystis*. *Biogeochemistry*, 2007, 83: 3-18.

- [2] Qi Y Z, Shen P P, Wang Y. Taxonomy and lifecycle of genus *Phaeocystis* (Prymnesiophyceae). *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2001, 9(2):174-184.
- [3] Lancelot C, Billen G, Sournia A, Weisse T, Colijn F, Veldhuis M, Davies A, Wassmann P. *Phaeocystis* blooms and nutrient enrichment in the continental coastal zone of the North Sea. *Ambiology*, 1987, 16(1): 38-46.
- [4] Schoemann V, Becquevort S, Stefel J. *Phaeocystis* blooms in the global ocean and their controlling mechanisms; a review. *Journal of Sea Research*, 2005, 53: 43-66.
- [5] Rousseau V, Vaulot D, Casotti R, Cariou V, Lenz J, Gunkel J, Baumann M. The life cycle of *Phaeocystis* (Prymnesiophyceae): evidence and hypotheses. *Journal of Marine Systems*, 1994, 5(1): 23-39.
- [6] Peperzak L, Colijn F, Vrieling E G, Gieskes W W C, Peeters J C H. Observations of flagellates in colonies of *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae): a hypothesis for their position in the life cycle. *Journal of Plankton Research*, 2000, 22(2): 2181-2203.
- [7] Shen P P, Wang Y, Qi Y Z, Xie L C, Lü S H, Hodgkiss I J. Growth characteristics and life cycle of *Phaeocystis globosa* Scherffel. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2000, 24(6): 635-643.
- [8] Wang Y, Qi Y Z, Shen P P, Li S S, Lu S H. Effects of temperature and salinity on DMSP production in *Phaeocystis globosa*. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, 27(4): 367-371.
- [9] Wang Y, Qi Y Z, Li S S. Nutritional requirements for the growth of *Phaeocystis globosa*. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2007, 31(1): 24-29.
- [10] Hamm C E, Simson D A, Merkel R, Smetacek V. Colonies of *Phaeocystis globosa* are protected by a thin but tough skin. *Marine Ecology Progress Series*, 1999, 187: 101-111.
- [11] Hamm C E. Architecture, ecology and biogeochemistry of *Phaeocystis* colonies. *Journal of Sea Research*, 2000, 43: 307-315.
- [12] Ploug H, Stolte W, J rgensen B B. Diffusive boundary layers of the colony-forming plankton alga *Phaeocystis* sp.: implications for nutrient uptake and cellular growth. *Limnology and Oceanography*, 1999, 44(8):1959-1967.
- [13] Svensen C, Egge J K, Stiansen J E. Can silicate and turbulence regulate the vertical flux of biogenic matter? A mesocosm study. *Marine Ecology Progress Series*, 2001, 217: 67-80.
- [14] Jiménez C, Mercado J, Aguilera J, Rodríguez-Maroto J M, Niell F X. Effect of turbulence and inorganic carbon supply on growth of *Dunaliella viridis* Teodoresco. *International Journal of Salt Lake Research*, 1995, 4:223-232.
- [15] Jakobsen H H, Tang K W, Effects of protozoan grazing on colony formation in *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae) and the potential costs and benefits. *Aquatic Microbial Ecology*, 2002, 27: 261-273.
- [16] Parsons T R, Maita Y, Lalli C M. *A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis*. Oxford: Pergamon Press, 1984: 7-37.
- [17] Van Rijssel M, Hamm C E, Gieskes W W C. *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae) colonies: hollow structures built with small amounts of polysaccharides. *European Journal of Phycology*, 1997, 32(2): 185-192.
- [18] Janse I, Van Rijssel M, Gottschal J C, Lancelot C, Gieskes W W C. Carbohydrates in the North Sea during spring blooms of *Phaeocystis*: a specific fingerprint. *Aquatic Microbial Ecology*, 1996, 10: 97-103.
- [19] Nejstgaard J C, Tang K W, Steinke M, Dutz J, Koski M, Antajan E, Long J D. Zooplankton grazing on *Phaeocystis*: a quantitative review and future challenges. *Biogeochemistry*, 2007, 83:147-172.
- [20] Tang K W. Grazing and colony size development in *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae): the role of a chemical signal. *Journal of Plankton Research*, 2003, 25(7):831-842.
- [21] Tang K W, Smith W O, Shields A R, Elliott D T. Survival and recovery of *Phaeocystis Antarctica* (Prymnesiophyceae) from prolonged darkness and freezing. *Proceeding of Royal Society B*, 2009, 276: 81-90.

参考文献:

- [2] 齐雨藻, 沈萍萍, 王艳. 棕囊藻属(*Phaeocystis*)的分类与生活史(综述). *热带亚热带植物学报*, 2001, 9(2): 174-184.
- [7] 沈萍萍, 王艳, 齐雨藻, 谢隆初, 吕颂辉, Hodgkiss I J. 球形棕囊藻的生长特性及生活史研究. *水生生物学报*, 2000, 24(6): 635-643.
- [8] 王艳, 齐雨藻, 沈萍萍, 李韶山, 吕颂辉. 温度和盐度对球形棕囊藻细胞 DMSP 产量的影响. *水生生物学报*, 2003, 27(4): 367-371.
- [9] 王艳, 齐雨藻, 李韶山. 球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa* Scherffel)生长的营养需求研究. *水生生物学报*, 2007, 31(1): 24-29.