

· 研究报告 ·

球形棕囊藻的生长、囊体形态以及囊体细胞的分布

黄天吾, 王小冬, 王艳*

暨南大学赤潮与水环境研究中心, 广州 510632

摘要 球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)是中国近海海区常见有害藻华原因种, 其异型生活史中包含单细胞和球形囊体两种形态。游离单细胞直径一般为几微米, 囊体最大直径可达3 cm, 巨大的体积可能导致囊体具有特殊的结构和细胞分布。以球形棕囊藻汕头株为研究对象, 测定了囊体直径、囊体细胞丰度和游离单细胞丰度, 并探讨球形棕囊藻囊体形态与细胞分布的关系。研究表明, 囊体形态在其异型生活史中占优势, 囊体对生物量的贡献介于38%–95%之间, 在对数生长期的后期和稳定期, 囊体细胞与单细胞相比占绝对优势。囊体细胞数量与囊体直径的对数呈线性相关, 回归线斜率为1.34, 该值显著低于世界海区其它球形棕囊藻株系的研究结果, 表明汕头株单位囊体表面上分布的细胞数更少。中国海区的球形棕囊藻囊体结构和细胞分布与其它株系不同, 在爆发球形棕囊藻的海区, 巨大的囊体能够有效地抵御摄食, 可能对区域海洋食物链结构和功能有重要影响。

关键词 囊体, 有害藻华, 生活史, 球形棕囊藻, 单细胞

黄天吾, 王小冬, 王艳 (2012). 球形棕囊藻的生长、囊体形态以及囊体细胞的分布. 植物学报 47, 508–514.

球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)隶属定鞭藻纲, 具有广温和广盐性特点, 在世界海洋中分布广泛, 经常引发大规模有害藻华(Schoemann et al., 2005; 王艳等, 2006)。棕囊藻在海洋碳和硫循环中具有重要的调控作用, 继而影响了生物地球化学循环和气候变化(王艳等, 2003; Lancelot et al., 2007; Verity et al., 2007)。1997年秋至1998年春, 我国南海首次爆发大面积球形棕囊藻藻华, 造成的直接经济损失高达6 500万元(Qi et al., 2004)。之后, 该种在我国海域多次爆发藻华(王艳等, 2007), 对渔业、旅游业以及海洋生态环境造成了严重影响。球形棕囊藻生活史复杂, 具有游离单细胞和囊体两种生活形态: 单细胞直径介于3–9 μm 之间, 囊体大小一般不超过10 mm(Rousseau et al., 2007)。而我国南海发现的球形棕囊藻囊体直径则可达3 cm(陈菊芳等, 1999; Qi et al., 2004), 是目前发现的粒径最大且细胞含量最高的囊体(王小冬和王艳, 2011)。

生活史中囊体的存在被认为是球形棕囊藻具有优势生存策略的重要原因(Verity and Smetacek, 1996; Lancelot et al., 1998)。囊体致密坚韧的外被能

够有效地抵抗浮游动物的捕食以及细菌和病毒的侵蚀(Hamm et al., 1999)。囊体的大体积导致浮游动物和囊体间的粒径不匹配, 使得浮游动物无法有效地摄食囊体(Tang et al., 2001; Jakbosen and Tang, 2002)。摄食压力的存在促进了囊体的形成和体积的增大(Tang, 2003; Long et al., 2007)。棕囊藻单细胞易受到病毒的侵蚀, 但其囊体具有紧致的囊体外被则不易受到侵染, 囊体外被具有很好的防御作用(Brusgaard et al., 2005, 2007)。囊体的中空结构可以调控浮力, 使棕囊藻易于漂浮在海水表层, 从而可获得更多的光照进行光合作用(Wang and Tang, 2010)。尽管囊体的形成需要额外的物质和能量投入, 但并未降低囊体单细胞的生长速率(Jakbosen and Tang, 2002; Wang et al., 2010)。因而, 囊体的形成及其特殊的形态结构有助于球形棕囊藻藻华的发生和持续(Schoemann et al., 2005; Verity et al., 2007)。

鉴于棕囊藻囊体结构的特殊性及其对生态系统的重要影响, 囊体形态、结构及其与单细胞的关系成为棕囊藻生理生态学研究的重要内容。Davidson和Marchant (1987)首次建立了囊体直径与囊体细胞数

收稿日期: 2012-01-10; 接受日期: 2012-05-09

基金项目: 科技部国家支撑计划(No.2012BAC07B05)、国家自然科学基金(No.41106117)和广东省自然科学基金(No.S2011040003419)

* 通讯作者。E-mail: yanwang7018@163.com

量的对数关系模型, 利用该模型可通过已知囊体直径获得相应囊体的细胞数量; 并且回归线的斜率反映了囊体细胞的分布状况(Rousseau et al., 1990)。Rousseau等(1990)和van Rijssel等(1997)相继建立了囊体体积(或面积)与囊体颗粒有机物质(POC、PON)的关系模型, 但是这些模型因藻株的不同而具有微小差异(Jakbosen and Tang, 2002; Wang et al., 2011)。中国海区的球形棕囊藻囊体最大直径为3 cm, 可能具有更加特殊的囊体细胞分布特征(Wang et al., 2011)。但到目前为止, 对其囊体直径与细胞数量间关系的研究尚未见报道。本文对我国南海的球形棕囊藻藻株进行研究, 分析其囊体直径与囊体细胞数量间的关系, 囊体和单细胞对球形棕囊藻生物量的贡献, 阐明了囊体在球形棕囊藻生活史中的地位和作用, 以期揭示球形棕囊藻的生存策略和藻华发生机制。

1 材料与方法

1.1 藻类培养

本实验使用的球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa* Scherffel)于1997年采自中国汕头附近的藻华发生海区。挑选健康完整的球形棕囊藻囊体, 保存于暨南大学赤潮与水环境研究中心的“微藻种质资源库”。球形棕囊藻培养于f/2培养基, 在盐度30、温度20℃、光照强度100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、光照周期为12小时光照/12小时黑暗的条件下进行继代和保种培养。

1.2 囊体直径、细胞数量和叶绿素含量的测定

取球形棕囊藻单细胞接种于f/2培养基中, 初始密度为2 000个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ (cells $\cdot\text{mL}^{-1}$)。每2天取样1次。需在显微镜下观察的样品应先加入鲁哥试剂(终浓度为4%)固定, 再在Nikon-TE2000倒置显微镜下观察单细胞数量、囊体数量、囊体细胞数并测量囊体直径(Tang, 2003; Wang et al., 2011)。取40 mL新鲜培养液, 其中20 mL通过Whatman GF/F滤膜过滤; 另外20 mL培养液通过重力作用在孔径为20 μm 的聚碳酸酯滤膜上过滤(Wang et al., 2010)。滤膜浸泡于丙酮(90%)中, 4℃下黑暗萃取24小时, 用TD-Trilogy荧光仪测定叶绿素含量。

1.3 数据统计分析

利用Sigmaplot 12软件进行数据统计和方差分析。囊体直径、囊体数量和单细胞数量随时间的变化采用One Way RM ANOVA分析, 显著性水平设为 $P<0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 单细胞和囊体丰度变化

球形棕囊藻囊体与单细胞的生长趋势并不一致(图1A, B)。游离单细胞丰度在前6天增加不显著, 12天后显著增多($P<0.001$)。囊体于第4天形成, 之后其数量迅速增加, 到第12天达到最高(1 140 colonies $\cdot\text{mL}^{-1}$), 然后逐渐降低($P<0.01$)。当球形棕囊藻形成囊体后, 囊体细胞所占总细胞的比例介于38%–95%之间; 到第12天, 囊体细胞相对百分率达到最高, 棕囊藻细胞几乎全部以囊体的形态存在, 单细胞极少(图1C)。

2.2 单细胞和囊体中的叶绿素含量

总叶绿素a浓度从第4天开始逐渐增加, 到第12天达到最高值(107.3 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)($P<0.001$), 然后逐渐降低(图2A)。单细胞叶绿素a浓度的变化与囊体叶绿素一致, 但是囊体细胞叶绿素a所占的比例远高于单细胞。除第4天外, 囊体叶绿素占总叶绿素的比例均达到55%以上($P<0.001$)(图2B)。

2.3 囊体直径和囊体内细胞的数量

囊体直径介于20–400 μm 之间(图3A)。其直径在前10天内不断增加($P<0.01$), 随后未有显著变化($P>0.05$)。随着囊体直径的增加, 囊体细胞数量也逐渐增多, 到16天时囊体平均细胞数量达到最大值(394 cells $\cdot\text{colony}^{-1}$)(图3B)。随后囊体破裂, 部分囊体细胞逸出囊体导致其数量迅速降低($P<0.001$)。

2.4 囊体直径和囊体细胞数量的对数关系

本研究共测量了148个囊体的直径和囊体细胞数量。结果表明, 囊体细胞数量的对数与囊体直径的对数值呈显著的线性相关($P<0.001$)(图4), 线性回归线的斜率为1.34, 说明囊体内细胞数量随囊体直径的增加而增加。

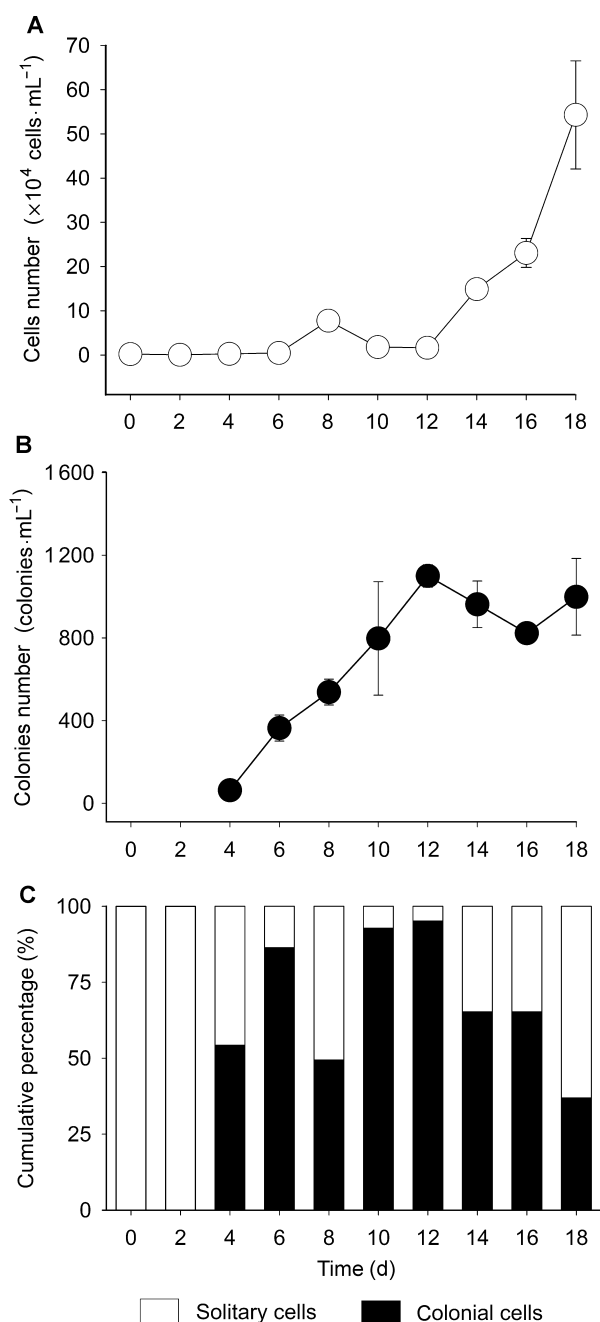


图1 实验室培养条件下球形棕囊藻游离单细胞丰度(A)、囊体数量(B)和囊体细胞相对百分率(C)

Figure 1 The abundance of solitary cells (A) and colonies (B), and their percentage relative to the total cells (C) of *Phaeocystis globosa* cultured under laboratory conditions

2.5 讨论

2.5.1 球形棕囊藻的生活史

球形棕囊藻藻华发生时, 直径为1–3 cm的囊体漂浮在水体中, 单细胞数量很少甚至不存在, 囊体为球形棕囊藻生活史中的优势形态(陈菊芳等, 1999; Qi et al., 2004; Verity et al., 2007)。但是囊体是由单细胞转化而来, 单细胞是囊体存在的基础, 因此阐明单细胞与囊体的关系是理解棕囊藻藻华发生动力学的基础。Qi等(2001)的研究结果表明, 在指数生长期, 球形棕囊藻50%以上(最高达到95%)的细胞以囊体形态存在, 与本研究结果类似。且在相同培养条件下, 本研究发现的囊体数量显著高于CCMP1528株系(王艳等, 2010), 说明汕头株可能具有更强的囊体构建能力。但是球形棕囊藻囊体细胞的叶绿素含量与囊体细胞数量不成正比, 当囊体细胞数占总细胞数量的90%左右时, 囊体细胞的叶绿素含量仅占全部细胞叶绿素含量的60%左右, 说明此时囊体上单位细胞的叶绿素含量小于游离单细胞的单位叶绿素含量。囊体的构建, 需要球形棕囊藻投入更多的物质和能量(用于囊体物质的生产)(Hamm et al., 2001; 王小冬和王艳, 2011), 因而单位细胞的物质含量必然会减少。

2.5.2 囊体直径与囊体细胞数量的对数关系

本研究结果表明, 球形棕囊藻汕头株的囊体直径对数与囊体细胞数的对数呈显著的线性相关, 回归线斜率为1.34。回归线的斜率小于2, 说明囊体细胞的数量随囊体直径的增大而增多, 但囊体单位面积所含的细胞数随直径的增大而减少(Rousseau et al., 1990; Jakobsen and Tang, 2002; Wang et al., 2010), 即囊体越大, 细胞越稀疏。本研究中的回归线斜率(1.34)显著小于其它球形棕囊藻株系(表1), 说明汕头株囊体细胞更稀疏。这一结果部分解释了球形棕囊藻在南海海区能够形成巨型囊体的可能原因, 即: 囊体细胞投入了更多的物质和能量用于囊体的构建, 使得囊体直径不断增加, 但同时可能会使囊体细胞的生长和分

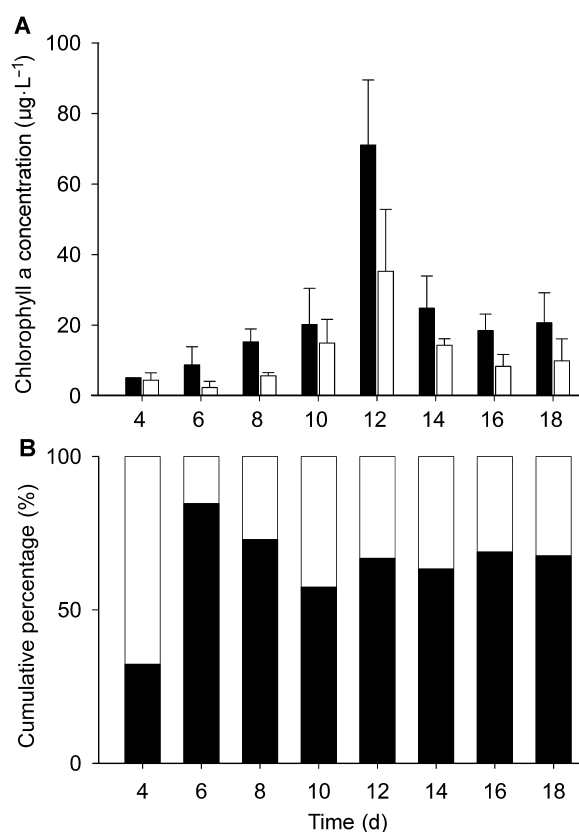


图2 球形棕囊藻单细胞(白)和囊体细胞(黑)的叶绿素a浓度(A)和相对百分率(B)

Figure 2 Chlorophyll a concentration (A) of solitary cells (white) and colonial cells (black) and their percentage relative to total chlorophyll a (B) of *Phaeocystis globosa*

裂速率降低, 从而导致单位囊体表面的细胞数量减少。在越南海区现场中发现的球形棕囊藻的囊体直径对数与囊体细胞数的对数的相关性回归斜率为2.44, 说明囊体在形成藻华时具有更加紧密的细胞分布。不同海区的球形棕囊藻观察结果的差异(表1)有可能是海区自然条件的差异以及实验室培养条件之间的差异造成的。另外, 其它研究中的球形棕囊藻CCMP 1528和CCMP 629株系的囊体直径均小于5 mm(大部分低于500 μm)(Rousseau et al., 1990; Jakobsen and Tang, 2002; Wang et al., 2010)。而本研究中的球形棕囊藻汕头株自然条件下的囊体直径常超过1 cm, 较大的直径可能会导致不同的形态结构, 从而

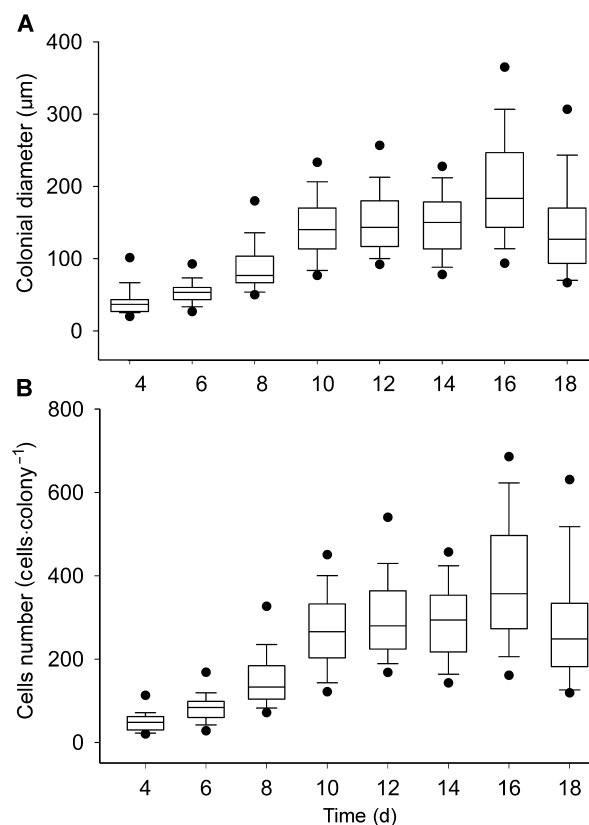


图3 球形棕囊藻囊体直径(A)和囊体细胞数量(B)增长模式

Figure 3 Growth patterns of colony diameter (A) and colonial cell abundance (B) of *Phaeocystis globosa*

造成不同的囊体细胞分布特点。

2.5.3 棕囊藻生活史对海洋生态系统的影响

囊体细胞数量、细胞分布和结构等特征决定着球形棕囊藻的生态效应。球形棕囊藻游离单细胞很小, 一般只有几微米(Lancelot and Rousseau, 1994; Lancelot et al., 2007), 容易被微型浮游动物摄食或者被微生物侵蚀(Nejstgaard et al., 2007)。而囊体体积大且胶质囊被构造紧密, 能够很大程度地保护囊体内细胞免受侵害(Hamm et al., 1999); 同时能够保持与游离单细胞相同的生长率(van Rijssel et al., 1997)。中国海区的球形棕囊藻囊体直径达3 cm, 可更加有效地提高棕囊藻的生长率并降低其死亡率, 同时这也解释了球形棕囊藻藻华反复发生且规模宏大的原因。然而

表1 球形棕囊藻不同藻株间囊体直径与细胞数量对数关系斜率的比较

Table 1 The slopes of log-log linear regression relationship between colony diameter and cells number per colony among different *Phaeocystis globosa* strains

Strain	Reference	Medium	Colonial diameter	Slope
Vietnam	Liu, 2011	<i>In situ</i>	≤1.4 cm	2.44
CCMP 1528	Tang, 2003	L-medium	≤200 μm	1.61
CCMP 1528	Wang et al., 2011	f/2	≤300 μm	1.51–1.57
CCMP 629	Wang et al., 2011	f/2	≤150 μm	1.53
North Sea	Rousseau et al., 1990	f/2	≤2 000 μm	1.53
Shantou strain (China)	Huang et al., 2012	f/2	≤400 μm	1.34

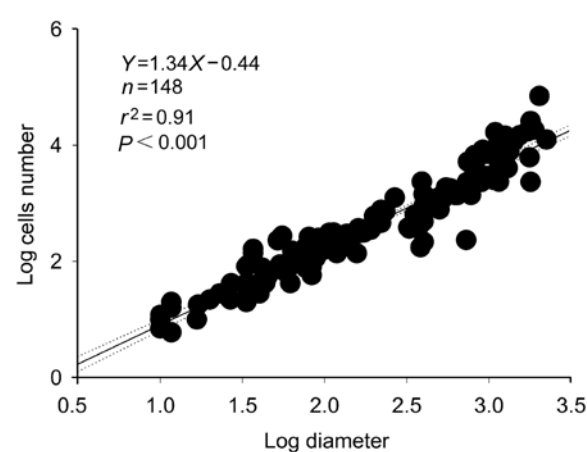


图4 球形棕囊藻囊体细胞数量与囊体直径的对数关系
实线为回归线，虚线为95%置信区间。

Figure 4 Logarithm relationship between cell abundance per colony and colony diameter of *Phaeocystis globosa*
Solid line is linear regressions, and dotted lines are the 95% confidence intervals

囊体越大，其单位面积的细胞数量越少，结果用于构建囊体胶质外被的物质相对减少，囊体的稳定性降低。此外，囊体越大也越容易破碎。由于囊体材料密度高于海水，破碎的囊体会向下沉降，在沉降的过程中有机物质可被细菌再矿化，这样更多的有机物质会进入微生物食物链。球形棕囊藻藻华的发生及其囊体大小和数量可能直接影响了物质和能量在海洋食物链中的循环与传递。

参考文献

陈菊芳, 徐宁, 江天久, 王艳, 王朝晖, 齐雨藻 (1999). 中国赤潮新记录种——球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*). 暨

南大学学报(自然科学版) **20**, 124–129.

王小冬, 王艳 (2011). 高摄食压力下球形棕囊藻聚集体的形成. 生态学报 **32**, 414–420.

王艳, 齐雨藻, 李韶山 (2007). 球形棕囊藻生长的营养需求研究. 水生生物学报 **31**, 24–29.

王艳, 齐雨藻, 沈萍萍, 李韶山, 吕颂辉 (2003). 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 **27**, 367–371.

王艳, 唐海溶, 蒋磊, 李韶山 (2006). 硝酸盐对球形棕囊藻生长和硝酸还原酶活性的影响. 植物学通报 **23**, 138–144.

王艳, 王小冬, 李韶山 (2010). 充气 and 搅动对球形棕囊藻生长及囊体形成的影响. 生态学报 **30**, 3368–3374.

Brussaard CPD, Bratbak G, Baudoux AC, Ruardij P (2007). *Phaeocystis* and its interaction with viruses. *Bio-geochemistry* **83**, 201–215.

Brussaard CPD, Kuipers B, Veldhuis MJW (2005). A mesocosm study of *Phaeocystis globosa* population dynamics. I. Regulatory role of viruses in bloom control. *Harmful Algae* **4**, 859–874.

Davidson AT, Marchant HJ (1987). Binding of manganese by Antarctic *Phaeocystis pouchetii* and the role of bacteria in its release. *Mar Biol* **95**, 481–487.

Hamm C, Reigstad M, Riser CW, Mühlebach A, Wassmann P (2001). On the trophic fate of *Phaeocystis pouchetii*. VII. Sterols and fatty acids reveal sedimentation of *P. pouchetii*-derived organic matter via krill fecal strings. *Mar Ecol Prog Ser* **209**, 55–69.

Hamm CE, Simson DA, Merkel R, Smetacek V (1999). Colonies of *Phaeocystis globosa* are protected by a thin but tough skin. *Mar Ecol Prog Ser* **187**, 101–111.

Jakobsen HH, Tang KW (2002). Effects of protozoan grazing on colony formation in *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae) and the potential costs and benefits. *Aquat Microb Ecol* **27**, 261–273.

- Lancelot C, Gypens N, Billen G, Garnier J, Roubex V** (2007). Testing an integrated river-ocean mathematical tool for linking marine eutrophication to land use: the *Phaeocystis*-dominated Belgian coastal zone (Southern North Sea) over the past 50 years. *J Marine Sys* **64**, 216–228.
- Lancelot C, Keller MD, Rousseau V, Smith WO, Mathot S** (1998). Autecology of the marine haptophyte *Phaeocystis* sp. In: Anderson DM, Cembella AD, Hallegraeff GM, eds. *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. Berlin: Springer-Verlag. pp. 209–224.
- Lancelot C, Rousseau V** (1994). Ecology of *Phaeocystis*-dominated ecosystems: the key role of colony forms. In: Leadbeater B, Green J, eds. *Systematics Association: the Prymnesiophyte Algae*. Oxford: Oxford University Press. pp. 229–245.
- Liu X** (2011). Ecological, Physiological and Bio-optical Characteristics of *Phaeocystis globosa* in Coastal Waters of South Central Vietnam. USA: The College of William and Mary in Virginia. pp. 40–83.
- Long JD, Frischer ME, Robertson CY** (2007). A *Phaeocystis globosa* bloom associated with upwelling in the subtropical South Atlantic Bight. *J Plant Res* **29**, 769–774.
- Nejstgaard JC, Tang KW, Steink M, Dutz J, Koski M, Antajan E, Long DJ** (2007). Zooplankton grazing on *Phaeocystis*: a quantitative review and future challenges. *Biogeochemistry* **83**, 29–47.
- Qi YZ, Chen JF, Wang ZH, Xu N, Wang Y, Shen PP, Lu SH, Hodgkiss IJ** (2004). Some observations on harmful algal bloom (HAB) events along the coast of Guangdong, southern China in 1998. *Hydrobiology* **512**, 209–214.
- Qi YZ, Shen PP, Wang Y** (2001). Taxonomy and life cycle of genus *Phaeocystis* (Prymnesiophyceae). *J Trop Subtrop Bot* **9**, 174–184.
- Rousseau V, Chrétiennot-Dinet MJ, Jacobsen A, Verity P, Whipple S** (2007). The life cycle of *Phaeocystis*: state of knowledge and presumptive role in ecology. *Biogeochemistry* **83**, 29–47.
- Rousseau V, Mathot S, Lancelot C** (1990). Calculating carbon biomass of *Phaeocystis* sp. from microscopic observations. *Mar Biol* **107**, 305–314.
- Schoemann V, Becquevort S, Stefels J, Rousseau V, Lancelot C** (2005). *Phaeocystis* blooms in the global ocean and their controlling mechanisms: a review. *J Sea Res* **53**, 43–66.
- Tang KW** (2003). Grazing and colony size development in *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae): the role of a chemical signal. *J Plant Res* **25**, 831–842.
- Tang KW, Jakobsen HH, Visser AW** (2001). *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae) and the planktonic food web: feeding, growth, and trophic interactions among grazers. *Limnol Oceanogr* **46**, 1860–1870.
- van Rijssel M, Hamm CE, Gieskes WWC** (1997). *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae) colonies: hollow structures built with small amounts of polysaccharides. *Eur J Phycol* **32**, 185–192.
- Verity PG, Smetacek V** (1996). Organism life cycles, predation, and the structure of marine pelagic ecosystems. *Mar Ecol Prog Ser* **130**, 277–293.
- Verity PG, Whipple SJ, Nejstgaard JC, Alderkamp AC** (2007). Colony size, cell number, carbon and nitrogen contents of *Phaeocystis pouchetii* from western Norway. *J Plant Res* **29**, 359–367.
- Wang XD, Tang KW** (2010). Buoyancy regulation in *Phaeocystis globosa* Scheffel colonies. *Open Mar Biol J* **4**, 115–121.
- Wang XD, Tang KW, Wang Y, Smith WO** (2010). Temperature effects on growth, colony development and carbon partitioning in three *Phaeocystis* species. *Aquat Biol* **9**, 239–249.
- Wang XD, Wang Y, Smith WO** (2011). The role of nitrogen on the growth and colony development of *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae). *Eur J Phycol* **46**, 305–314.

Growth, Architecture and Cell Distribution in *Phaeocystis globosa* Colonies

Tianwu Huang, Xiaodong Wang, Yan Wang*

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

Abstract *Phaeocystis globosa* frequently causes extensive harmful algal blooms in coastal waters of China. It has unusual life cycles, transferring between solitary cell and colonies. Solitary cells are generally a few microns in diameter, but colonies are up to 3 cm in diameter. The giant colony may result in its unique structure and cell distribution. We measured the colony diameter, colony-cell abundance and solitary-cell abundance in *P. globosa* (Shantou strain, isolated from South China Sea in 1997) to investigate the relationship of colony architecture and cell distribution. The results showed that colony is the dominant form during the polymorphic life cycle of *P. globosa*, with contributions of 38% to 95% to total biomass, especially in the late exponential and stationary phases, when colony-cell abundance assumed absolute superiority over solitary cells. Log colony-cell abundance increased with log colony diameter with the slope of 1.34 on the regression line; whereas the value was significantly lower than those in the previous studies. Therefore, the colony of *P. globosa* (Shantou strain) contains relatively fewer cells per unit surface area, which means the Shantou strain differed from other strains in colony architecture and cell distribution. *P. globosa* from Shantou can form a giant colony, which effectively protects against predators and may significantly influence the food web structure and function in regions with *P. globosa* blooms.

Key words colony, harmful algal blooms, life cycle, *Phaeocystis globosa*, solitary cell

Huang TW, Wang XD, Wang Y (2012). Growth, architecture and cell distribution in *Phaeocystis globosa* colonies. *Chin Bull Bot* 47, 508–514.

* Author for correspondence. E-mail: yanwang7018@163.com