

文章编号: 1674-7054(2014)01-0020-05

摄食对球形棕囊藻囊体形成的影响

王小冬, 郑晶晶, 王 艳

(暨南大学 赤潮与海洋生物学研究中心 广东 广州 510632)

摘 要: 利用海洋尖尾藻摄食球形棕囊藻, 研究摄食与球形棕囊藻生活史转换的关系。结果表明: 海洋尖尾藻可大量摄食球形棕囊藻游离单细胞, 摄食引发球形棕囊藻囊体直径显著增大。即使同海洋尖尾藻并未直接接触, 球形棕囊藻依然可感受天敌摄食的信息, 从而增大囊体直径。囊体直径增大是一种诱导性防御策略, 为囊体细胞提供保护, 可能是棕囊藻能够躲避浮游动物摄食而引发大规模藻华的重要机制。

关键词: 球形棕囊藻; 摄食; 囊体形成; 生活史

中图分类号: P 76

文献标志码: A

棕囊藻(*Phaeocystis*)为全球广布有害藻华物种, 从热带到两极海域均发现其引发的大规模藻华^[1]。棕囊藻藻华发生时, 可吸收大量 CO₂ 并释放二甲基巯基丙酸内盐(DMSP), 因此, 在碳和硫的生物地化循环过程中具有重要的调控作用, 甚至间接影响了全球气候变化^[2-3]。棕囊藻具有特殊的异型生活史, 包括游离单细胞和囊体 2 个可互相转换的形态阶段^[4]。单细胞一般只有 3~10 μm, 囊体则可达到几个 mm, 在我国南海和渤海发现的球形棕囊藻囊体直径可达 3 cm, 为世界上最大的棕囊藻^[5]。囊体外被是 1 层轻薄、坚韧且有弹性的半透膜, 多达几千个细胞均匀的分布在囊体外被内表层^[6]。棕囊藻特殊的异型生活史的不同阶段, 具有不同的生态学意义: 游离单细胞生长快速, 能够度过黑暗或者营养盐限制等恶劣环境; 囊体形成则为细胞提供了高效的防御策略。囊体较大的体积和坚韧的外被抑制了浮游动物、病毒和细菌的摄食或侵蚀, 为囊体内细胞的继续生长提供保护^[7]。棕囊藻引发藻华时, 囊体为主要优势形态, 游离单细胞极少存在^[3, 8], 由于囊体阻碍了浮游动物摄食, 球形棕囊藻藻华发生可能导致食物链的能量流动和物质循环的中断, 从而对海洋生态系统结构和功能产生重要的影响^[2, 9]。但是, 棕囊藻一旦转移至室内培养, 经常出现囊体体积缩小甚至消失, 游离单细胞成为主要优势形态的现象。此现象目前还未有合理的解释。同自然海区相比较, 实验室内单种培养体系中缺乏摄食者的存在, 棕囊藻囊体消退可能是摄食压力缺乏的结果。为验证这一假设, 笔者通过摄食实验, 研究棕囊藻诱导性摄食防御策略, 观察在摄食压力胁迫下, 由游离单细胞形成囊体的动态过程, 从而阐明摄食与球形棕囊藻生活史转换的关系。

1 材料与方法

1.1 藻种和摄食者的培养 球形棕囊藻于 1997 年采自柘林湾。藻华发生时, 水体中囊体直径范围在 1.5~3 cm, 小心挑取完整圆球状囊体, 培养于暨南大学赤潮研究中心藻种室。球形棕囊藻接种于 f/2 培养基, 培养温度为 20℃, 培养光强为 8 000 Lx, 每天光照 12 h。但是, 再次接种后, 囊体体积逐渐缩小, 游离单细胞比例提高, 最终成为优势形态。实验前, 将球形棕囊藻培养液通过孔径 10 μm 的筛绢过滤, 除去囊体, 收集游离单细胞作为实验藻种。本研究采用异养甲藻—海洋尖尾藻(*Oxyrrhis marina*)作为摄食者,

收稿日期: 2014-03-05

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973)项目(2011CB403603); 国家自然科学基金项目(41106117, 41276155); 科技部国家科技支撑计划(2012BAC07B05)

作者简介: 王小冬(1978-), 男, 暨南大学赤潮与海洋生物学研究中心副研究员, 主要从事海洋浮游植物生理学研究。

通信作者: 王艳, 研究员. E-mail: yanwang7018@163.com

海洋尖尾藻体长约 $35\ \mu\text{m}$, 能够大量摄食棕囊藻的游离单细胞^[10]。海洋尖尾藻同样培养于 f/2 培养液中, 加入球形棕囊藻游离单细胞喂养, 培养温度为 $20\ ^\circ\text{C}$, 培养光强为 $8\ 000\ \text{Lx}$, 每天光照 $12\ \text{h}$ 。

1.2 摄食实验 将球形棕囊藻单细胞接种至 6 个烧杯中, 接种体积为 $250\ \text{mL}$, 初始密度为 $1\ 000\ \text{cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。将海洋尖尾藻转移至其中 3 个烧杯中作为摄食组, 初始密度为 $100\ \text{cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$, 其余 3 个烧杯中仅包含球形棕囊藻游离单细胞作为对照组。摄食实验在恒温光照振荡培养箱中进行, 转速为 $25\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, 保持烧杯内细胞均匀分布, 同时提高海洋尖尾藻同棕囊藻细胞的相遇率。培养条件: 温度为 $20\ ^\circ\text{C}$, 光强为 $8\ 000\ \text{lx}$, 每天光照 $12\ \text{h}$ 。摄食实验持续 $14\ \text{d}$, 自第 4 天起, 每 $2\ \text{d}$ 取样 1 次观察海洋尖尾藻摄食及球形棕囊藻生长状况。

1.3 摄食信息实验 球形棕囊藻游离单细胞接种至 6 个体积为 $500\ \text{mL}$ 的烧杯中, 接种体积为 $250\ \text{mL}$, 初始密度为 $1\ 000\ \text{cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。海洋尖尾藻同球形棕囊藻单细胞共同接种于 3 个 $50\ \text{mL}$ 的离心管, 初始密度分别为 $100, 1\ 000\ \text{cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。离心管开口端使用孔径 $2\ \mu\text{m}$ 的聚碳酸酯滤膜(EMD Millipore, USA)密封, 并浸入培养瓶内液面之下。由于棕囊藻单细胞和海洋尖尾藻细胞粒径均高于 $2\ \mu\text{m}$, 细胞不能穿过, 但是溶解性摄食信息可通过滤膜流入培养瓶^[11]。对照组烧杯同样放入 3 个离心管, 但仅装有初始密度为 $1\ 000\ \text{cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的球形棕囊藻游离单细胞。本实验持续时间为 $7\ \text{d}$, 预实验结果表明, 在相同生长条件下, 球形棕囊藻在 $5 \sim 12\ \text{d}$ 时维持在指数生长期。

1.4 取样与测定 取样前, 每个烧杯轻轻摇动使藻类细胞分布均匀。从每个培养瓶中取出 $20\ \text{mL}$ 培养液, 加入终浓度为 $\varphi = 4\%$ 的酸性 Lugol's 溶液进行固定。在 Nikon TS100 倒置显微镜下观察计数海洋尖尾藻细胞数量, 球形棕囊藻游离单细胞数量、囊体数量、囊体直径和囊体内细胞数量^[11]。在摄食化学信息实验中, 6 只离心管中的样品应用同样方法观察海洋尖尾藻细胞数量、游离单细胞数量、囊体数量、囊体直径和囊体内细胞数量。

1.5 数据处理 应用 SigmaStat(v3.5 SPSS) 进行数据统计和显著性检验。应用 One Way ANOVA 分析检验细胞和囊体数量随时间的变化的显著性; 统计摄食组和对照组间细胞数量、囊体数量和囊体直径数量的差异采用 t 检验, 显著性水平设置为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 摄食实验 从图 1 可知, 球形棕囊藻游离单细胞丰度逐渐提高, 在 $12\ \text{d}$ 后开始下降。由于海洋尖尾藻的摄食, 摄食组中单细胞丰度在 $6 \sim 12\ \text{d}$ 内显著低于对照组 ($P < 0.05$)。与此同时, 海洋尖尾藻的数量逐渐提高, 至 $14\ \text{d}$ 时达到最高 [$(2\ 557 \pm 308)\ \text{cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$] 较其初始密度提高约 25 倍。

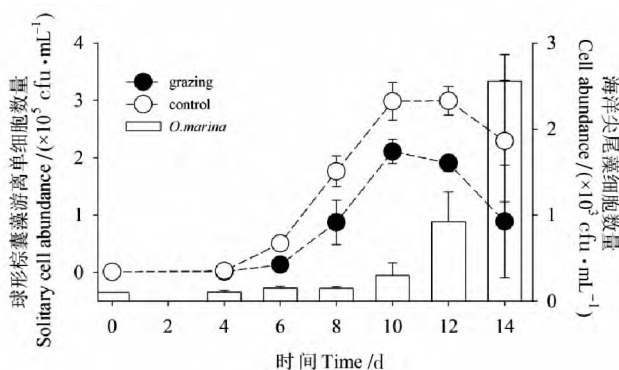


图1 摄食实验中球形棕囊藻游离单细胞及海洋尖尾藻细胞数量变化

Fig. 1 Single cell abundances of *P. globosa* and *O. marina* in the grazing experiment

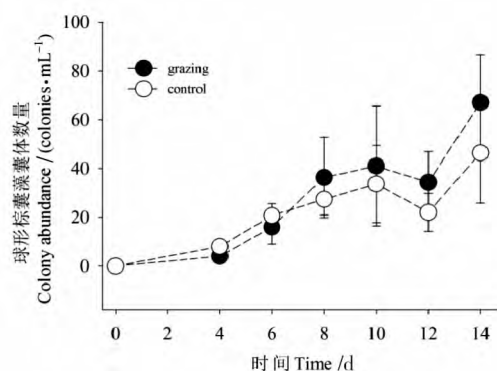


图2 摄食实验中球形棕囊藻囊体数量的变化
Fig. 2 Colony concentrations of *P. globosa* in the grazing experiment

从图 2 可知, 球形棕囊藻的囊体自第 4 天开始形成, 其数量逐渐提高。但是, 摄食组中球形棕囊藻囊体的数量跟对照组并无显著差异 ($P > 0.05$), 摄食压力的存在并未提高囊体数量。

从图 3 可知, 尽管摄食组同对照组间囊体数量并无差异, 但是海洋尖尾藻摄食后的球形棕囊藻囊体

具有更大的直径,此趋势在 10~14 d 时最明显 ($P < 0.05$),摄食组中囊体直径最大达到 $635 \mu\text{m}$,而对照组中最大为 $490 \mu\text{m}$ 。

2.2 摄食信息实验 从表 1 可知,实验 7 d 后,摄食组中离心管内球形棕囊藻游离单细胞的细胞丰度仅为 $(72.7 \pm 8.0) \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$,远远低于对照组中离心管内的 $(139.3 \pm 15.6) \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。同时,海洋尖尾藻的细胞数量从 $100 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 迅速提高到 $(780.0 \pm 48.0) \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$,此现象表明,离心管内海洋尖尾藻大量摄食了球形棕囊藻的游离单细胞。摄食过程中的摄食信息可通过滤膜交换至烧杯中,但是摄食组和对照组间球形棕囊藻的单细胞和囊体数量并无显著性差异 ($P > 0.05$),说明摄食信息并未影响细胞的分裂和囊体的数量。

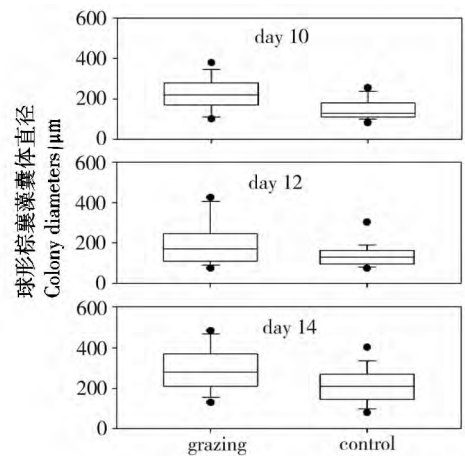


图 3 摄食实验中球形棕囊藻直径的变化

Fig. 3 Colony diameters of *P. globosa* in the grazing experiment

表 1 摄食信息实验中海洋尖尾藻和球形棕囊藻的变化

Tab. 1 Abundance, single cell abundance and colony numbers of *O. marina* and *P. globosa* in the grazing experiment

摄食信息实验 Grazing Exp.		海洋尖尾藻数量 /($\text{cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$) <i>O. marina</i> number	球形棕囊藻单细胞丰度 /($\times 10^3 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$) Single cell abundance	球形棕囊藻囊体数量 /($\text{群} \cdot \text{mL}^{-1}$) Colony number
离心管内 Tubes	摄食者 Grazing	780.0 ± 48.0	$72.7 \pm 8.0^*$	$18 \pm 7.9^*$
	对照组 Control	0	139.3 ± 15.6	149.7 ± 39.5
烧杯内 Beakers	摄食者 Grazing	0	63.2 ± 2.4	144.7 ± 19.1
	对照组 Control	0	62.8 ± 12.0	161.7 ± 8.4

注: * 代表摄食组同对照组间存在显著性差异 ($P < 0.05$)

Note: * indicates significant difference at $P < 0.05$ between the feeding group and the control group

尽管摄食信息并未影响球形棕囊藻的细胞分裂和囊体形成,但是并不能说明球形棕囊藻没有感受摄食信息存在的能力。从图 4 可知,摄食信息的影响表现在摄食组中球形棕囊藻直径显著增大,摄食组球形棕囊藻囊体的直径为 $(129.6 \pm 38.7) \mu\text{m}$,而对照组中囊体的直径仅为 $(97.3 \pm 37.9) \mu\text{m}$,显著小于前者 ($P < 0.05$)。

随着囊体体积的增长,囊体内细胞数量随之提高。从图 5 可知,摄食组中囊体细胞占总细胞的比例为 15%,对照组低于 10%。尽管 2 组中囊体细胞均非优势形态,但是摄食信息的存在能够促使更多细胞以囊体形态存在。

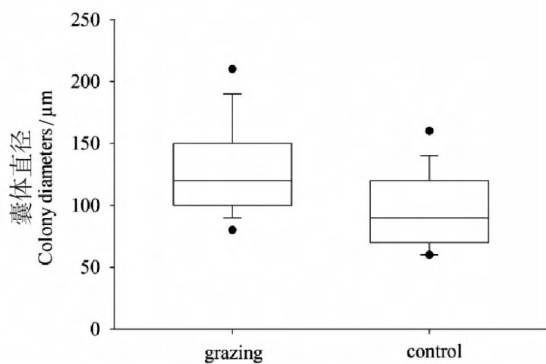


图 4 摄食信息实验中摄食组和对照组间球形棕囊藻直径

Fig. 4 Colony diameters of *P. globosa* in the grazing experiment

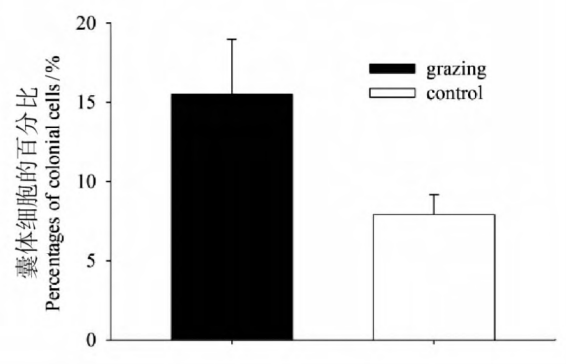


图 5 摄食信息实验中囊体细胞占总细胞的比例

Fig. 5 The contribution of colonial cells to the total cells in the grazing experiment

3 讨 论

棕囊藻是海洋生态系统中重要的有害藻华物种^[1-2],但其在生长过程中经常面临巨大的摄食压力^[12]。为了存活及形成藻华,球形棕囊藻进化出诱导性防御策略以减少摄食死亡率,诱导性防御则发生在摄食行为之后,激发后可抵制浮游动物的进一步摄食^[13]。

在摄食实验中,当游离单细胞被大量摄食后,球形棕囊藻的生理响应反映在其囊体直径迅速增大。本实验中采用的海洋尖尾藻直径为 35 μm ,可以顺利摄食球形棕囊藻的游离单细胞(5~9 μm)。而摄食组中囊体的体积范围在 70~500 μm ,其下限已超过海洋尖尾藻直径,导致海洋尖尾藻已无法顺利摄食^[14],囊体体积的增大为囊体内细胞提供了保护。摄食后囊体体积增大属于典型的诱导性防御策略,这个现象可能归因于小体积囊体被海洋尖尾藻摄食。如果直径小于 35 μm 的囊体被摄食,那么摄食组中囊体的平均直径依然可能提高。

摄食信息实验的结果表明,囊体直径的提高归因于摄食压力的存在,是诱导性防御的结果。在摄食信息实验中,摄食组烧杯内的球形棕囊藻并未直接接触海洋尖尾藻,仅仅能接受从离心管内流出的溶解性摄食信息,但是球形棕囊藻依然表现出相同的生理响应—囊体直径大幅度提高。说明球形棕囊藻具有捕捉并感受化学信息的能力。同摄食实验结果类似,球形棕囊藻囊体直径最低为 70 μm ,为摄食者—海洋尖尾藻粒径的 2 倍。较高的囊体直径导致植物同摄食者之间的粒径不匹配,从而有效的减少摄食死亡率^[11]。由于囊体提供了保护措施,摄食组中以囊体形态存在的球形棕囊藻比例达 15%,而对照组中囊体形态则相对较少,同样说明了诱导性防御策略的作用。

同球形棕囊藻藻华发生特点比较,本研究结果具有 2 处差异:1) 摄食后的球形棕囊藻直径依然小于 1 cm,远远小于藻华发生时的囊体直径(1.5~3 cm);2) 球形棕囊藻依然以游离单细胞为主要优势形态(85%),囊体细胞的比例依然较低。上述差异可能归因于自然水体中存在其他浮游动物的摄食。浮游植物具有感受摄食者类型和粒径的能力,可根据摄食者类型、粒径和形态的不同而调整防御策略^[15]。本研究中仅采用海洋尖尾藻作为唯一摄食者,而海洋尖尾藻的摄食对象主要为游离单细胞,球形棕囊藻囊体只要将自身粒径调整至高于摄食者粒径即可有效进行防御。而自然海区中存在桡足类甚至鱼类等多种摄食者,而抵御这些动物的摄食显然要求棕囊藻囊体具有更高的直径范围。另外,自然水体中存在的搅动有助于球形棕囊藻囊体体积的扩张^[16]。

本研究结果表明,摄食者和摄食信息的存在均显著增大球形棕囊藻囊体直径并提高囊体细胞的比例,推动游离单细胞状态向囊体状态转换。球形棕囊藻生活史转换是一种有效的摄食防御策略,其囊体的形成同浮游动物摄食密切相关。尽管存在微生物侵蚀、沉降等死亡效应,摄食被认为是导致浮游植物死亡的主要因素,而抵御浮游动物摄食成为有害藻华物种生存和生长的主要竞争策略^[17-18]。棕囊藻囊体的形成为细胞提供保护,因此,成为藻华发生时的优势形态;而一旦转移至无摄食压力环境中,球形棕囊藻则可通过细胞的快速生长积累更高的生物量^[3],因此,实验室中培养的棕囊藻以游离单细胞为主。异型生活史赋予球形棕囊藻不同的生存策略,在不同生活环境下均可顺利生长,因而使其具有引发大规模藻华的竞争优势。

参考文献:

- [1] SCHOEMANN V, BECQUEVORT S, STEFEL J, et al. *Phaeocystis* blooms in the global ocean and their controlling mechanisms: a review [J]. J. Sea Res., 2005, 53(1): 43–66.
- [2] LANCELOT C, KELLER M D, ROUSSEAU V, et al. Autoecology of the marine Haptophyte *Phaeocystis* sp [M]// ANDERSON D M, CEMBELLA A D, HALLEGRAEFF G M. Physiological ecology of harmful algal blooms. Berlin: Springer Verlag, 1998: 209–224.
- [3] VERITY P G, BRUSSAARD C P, NEJSTGAARD J C, et al. Current understanding of *Phaeocystis* ecology and biogeochemistry, and perspectives for future research [J]. Biogeochemical, 2007, 83(1/3): 217–234.
- [4] ROUSSEAU V, VAULOT D, CASOTTI R, et al. The life cycle of *Phaeocystis* (Prymnesiophyceae): evidence and hypotheses [J]. J. Mar. Sys., 1994, 5(1): 23–39.

- [5] QI Y, CHEN J, WANG Z, et al. Some observations on harmful algal bloom (HAB) events along the coast of Guangdong, southern China in 1998 [J]. *Hydrobiology*, 2004, 512(1/3): 209–214.
- [6] VAN RIJSSEL M, HAMM C E, GIESKES W W C. *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae) colonies: hollow structures built with small amounts of polysaccharides [J]. *Eur J Phycol.*, 1997, 32: 185–192.
- [7] HAMM C E. Architecture, ecology and biogeochemistry of *Phaeocystis* colonies [J]. *J. Sea Res.*, 2000, 43(2): 307–315.
- [8] 齐雨藻, 沈萍萍, 王艳. 棕囊藻属(*Phaeocystis*) 的分类与生活史 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2001, 9(2): 174–184.
- [9] 王艳, 齐雨藻, 沈萍萍. 温度和盐度对球形棕囊藻细胞 DMSP 产量的影响 [J]. *水生生物学报*, 2003, 27(4): 367–371.
- [10] 王小冬, 王艳. 高摄食压力下棕囊藻凝聚体的形成. *生态学报* [J]. 2012, 32(2): 414–420.
- [11] TANG K W. Grazing and colony size development in *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae): the role of a chemical signal [J]. *J. Plankton Res.*, 2003, 25(7): 831–842.
- [12] NEJSTGAARD J C, TANG K W, STEINKE M, et al. Zooplankton grazing on *Phaeocystis*: a quantitative review and future challenges [J]. *Biogeochem* 2007, 83(1/3): 147–172.
- [13] VAN DONK E, JANORA A, VOS M. Induced defences in marine and freshwater phytoplankton: A review [J]. *Hydrobiologia*, 2011, 668(1): 3–19.
- [14] DAVIDSON K, SAYEGH F, MONTAGNES DJS. *Oxyrrhis marina* based models as a tool to interpret protozoan population dynamics [J]. *J. Plankton Res.*, 2011, 33(4): 651–663.
- [15] YOSHIDA T, HAIRSTON N G J, ELLNER S P. Evolutionary tradeoff between defense against grazing and competitive ability in a simple unicellular alga, *Chlorella vulgaris* [J]. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 2004, 271(1551): 1947–1953.

Effects of Grazing on the Colony Formation in *Phaeocystis globosa*

WANG Xiaodong, ZHENG Jingjing, WANG Yan

(Research Center for Harmful Algae and Marine Biology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: Heterotrophic dinoflagellate *Oxyrrhis marina* was grazed by *Phaeocystis globosa* to determine the life-cycle alternation in *Phaeocystis globosa* as response to chemical cues released from grazing *O. marina*. Colony formation in *P. globosa* was enhanced in terms of colony size when solitary cells of *P. globosa* were grazed by *O. marina* extensively. Even without direct physical contact with *O. marina* to initiate the defensive response, *P. globosa* received chemical signals generated during grazing activities that stimulated an increase in colony size. Colony enlargement belongs to inducible defense strategy, which allows *P. globosa* to defend against grazers. Life-cycle transformations and colony formation as responses to grazing may contribute to the global success of *Phaeocystis*.

Key words: *Phaeocystis globosa*; grazing; colony formation; life cycle