

不同摄食压力下球形棕囊藻的防御策略

丁立, 王小冬, 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:球形棕囊藻是我国沿海常见有害藻华物种,生活史中包括囊体和单细胞两种形态,藻华爆发时的优势形态是囊体,游离单细胞很少被发现,但是球形棕囊藻囊体形成的机制目前还不清楚。本研究通过分析桡足类、纤毛虫和异养甲藻及其化学信号对囊体形成的影响,以探究摄食压力对球形棕囊藻生活史转变的影响。实验结果表明:3种摄食者的直接摄食均引发了球形棕囊藻囊体直径的扩大,摄食者的粒径越大,球形棕囊藻的囊体直径增大越显著,安氏伪镖水蚤的化学信号也能引发球形棕囊藻囊体显著增大,但是游仆虫和海洋尖尾藻的化学信号并未引发类似响应。囊体形成和直径的扩大保护了囊体内细胞免受摄食,有助于球形棕囊藻藻华的发生。

关键字:球形棕囊藻;有害藻华;摄食;囊体形成;生活史

中图分类号:P76

文献标识码:A

文章编号:1671-6647(2018)01-0139-07

doi:10.3969/j.issn.1671-6647.2018.01.013

球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)是海洋中分布最为广泛的浮游植物之一,在热带和温带海域均有分布^[1]。球形棕囊藻最主要的特征是具有单细胞和囊体两种生活形态,单细胞大小为 3~10 μm ,囊体大小一般为几百 μm ^[2],我国沿海发现的囊体直径一度达到 3 cm,是目前世界上发现的最大囊体^[3-4]。球形棕囊藻藻华爆发时主要以囊体形态存在,单细胞很少被发现^[5]。囊体呈现球状中空结构,囊体细胞均匀分布在囊体的内壁附近^[5-6],囊体外被坚硬致密,为一层含有多糖的黏液层^[5,7]。球形棕囊藻在我国邻近海域曾多次爆发藻华,导致大量养殖鱼类死亡,对海洋生态环境造成严重影响^[4,8]。

浮游植物生长和种群扩增受到多种生物和环境制约^[9]。能够引起藻华的浮游植物物种大多具有维持高生长率,或者降低死亡率的能力^[10]。球形棕囊藻囊体的形成有效降低了浮游动物的摄食死亡率,从而为生物量的积累和藻华的发生提供了保障。球形棕囊藻囊体体积巨大,其外被致密坚韧,不易破碎,浮游动物对其无法有效摄食^[11-12],有效降低了细胞的死亡率^[9]。摄食压力的存在可能驱动球形棕囊藻囊体的形成。Tang^[13]的研究发现:异养甲藻和桡足类对球形棕囊藻的直接摄食及其释放的摄食信息均能够刺激球形棕囊藻形成更多囊体,且囊体体积显著提高,从而证实了摄食压力对球形棕囊藻生活史转换的促进作用。但是,其他后续研究并未发现类似的现象^[14-15]。这些结果的差异可能归因于这些研究采用不同的浮游动物和不同的球形棕囊藻株系(表 1)。浮游动物可能释放不同性质的摄食信息^[16],从而导致球形棕囊藻出现有差异的生理响应。

为了更系统地理解摄食压力同球形棕囊藻生活史转换的关系,本次实验以桡足类、纤毛虫和异养甲藻为研究对象,利用它们对球形棕囊藻的摄食,分析直接摄食对球形棕囊藻生活史转换的影响。由于浮游动物通过释放化学信息来感觉、定位并且捕捉浮游植物^[17-18],而浮游植物则可能感受这些摄食信息并做出响应^[14],本次研究同时设置摄食信息实验,分析不同浮游动物释放的摄食信息对球形棕囊藻的生长及囊体形成的影

收稿日期:2017-06-26

资助项目:国家自然科学基金项目——异养甲藻的营养优化功能研究(41676144);国家重点基础研究发展计划项目——我国近海致灾赤潮形成机理、监测预测及评估防治研究(2017YFC1404301);中央高校基本科研业务费专项——新型溴代阻燃剂和有机磷阻燃及塑化剂在华南沿海浮游植物中生物富集(21615458)

作者简介:丁立(1992-),男,浙江余姚人,硕士研究生,主要从事海洋浮游藻类生理生态学方面研究。E-mail: liding@stu2015.jnu.edu.cn

* **通讯作者:**王艳(1970-),女,陕西西安人,研究员,博士,主要从事海洋浮游藻类生理生态学方面研究。E-mail: yanwang7018@163.com

(王佳实 编辑)

响。本研究的开展有利于我们深入理解浮游植物防御和浮游动物摄食之间的联系和相互影响。

表 1 球形棕囊藻对不同浮游动物摄食压力的响应
Table 1 The responses of *P. globosa* to different grazing zooplankton

球形棕囊藻	摄食者	囊体变化	参考文献
CCMP1528	<i>Temora longicornis</i>	体积增大	Tang ^[13]
CCMP1528	<i>Gyrodinium dominans</i>	体积增大	Tang ^[13]
CCMP1528	<i>Glenodinium cf. danicum</i>	体积增大	Tang ^[13]
CCMP627	<i>Arctia tonsa</i> .	无显著变化	Long 等 ^[14]
CCMP627	<i>Euplotes</i> sp.	数目增多	Long 等 ^[14]
CCMP1528	<i>Acartia</i> sp.	无显著变化	Lundgren ^[15]

1 材料与方法

1.1 藻种和摄食者的培养

本次实验所用的球形棕囊藻采于汕头藻华发生海区,现保种于暨南大学赤潮与海洋生物学研究中心。球形棕囊藻培养于 f/2 培养基,在盐度为 30、温度为 20 °C、光强为 100 $\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、光暗比为 12 h : 12 h 的条件下培养。实验开始前,球形棕囊藻培养液通过孔径 20 μm 的 MILLIPORE 滤膜过滤,滤出液中只包含有游离单细胞,作为实验藻种。桡足类安氏伪镖水蚤 (*Pseudodiaptomus annandalei*),纤毛虫游仆虫 (*Euplotes* sp.) 和异养甲藻海洋尖尾藻 (*Oxyrrhis marina*) 同样培养于装有 f/2 培养液的 3 个大烧杯中,培养温度为 20 °C,培养光强为 100 $\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,每天光照 12 h,全部投喂土生杜氏藻 (*Dunaliella tertiolecta*)。

1.2 摄食实验

1.2.1 直接摄食实验

实验开始前,将游仆虫和海洋尖尾藻置于黑暗中一周,使土生杜氏藻全部被摄食掉^[19]。取 20 个体积为 250 mL 的锥形瓶,接种 200 mL 含有球形棕囊藻游离单细胞的培养液,初始密度为 10^3 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$,挑选 15 只生长活跃的安氏伪镖水蚤分别接入其中 5 个锥形瓶中,每个锥形瓶中含有 3 只桡足类。将纤毛虫和海洋尖尾藻转移到其余 10 个锥形瓶中,初始浓度分别为 10 和 100 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$,剩余 5 个装有球形棕囊藻单细胞的培养瓶作为对照组。实验采用半连续培养,所有样品每天都移除 10 mL 培养液,加入 10 mL f/2 培养液,确保营养盐充足。培养温度 20 °C,光照强度 100 $\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光暗比为 12 h : 12 h,培养时间 12 d。

1.2.2 化学信号实验

分别从培养了 7 d 的摄食者的 3 个烧杯中吸取 25 mL 培养液,通过 0.7 μm 的 GF/F 滤膜过滤,得到的滤出液中只含有摄食者释放的化学信号而不存在任何细胞,保留滤液用于化学信号实验^[14,19]。设置 3 个化学信号实验组:各取 5 个锥形瓶,加入 5 mL 含有不同化学信号的滤出液,然后接种球形棕囊藻单细胞于每个锥形瓶中,接种体积为 200 mL,初始密度为 10^3 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 。仅含有球形棕囊藻单细胞的作为对照组。实验采用半连续培养,所有样品每天都去除 10 mL 培养液,化学信号组样品加入 5 mL f/2 培养基和 5 mL 化学信号滤出液,对照组中每个样品加入 10 mL f/2 培养基。培养温度 20 °C,光照强度 100 $\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光暗比为 12 h : 12 h,培养时间 12 d。

1.3 取样与计数

取样前,轻轻摇动锥形瓶使球形棕囊藻细胞分布均匀。每个锥形瓶中取出 10 mL 样品,加入酸性

Lugol's 溶液固定。在 OLYMPUS-CKX41 倒置显微镜下,利用 1 mL 计数框计数游离单细胞数量,用 Costar 24 孔计数板计数囊体的数量、直径和囊体细胞数。球形棕囊藻囊体的计数方法参考文献[20]。

1.4 数据处理

利用 Sigmaplot 12.5 软件进行数据统计、显著性检验和作图,同时应用 one-way ANOVA 分析不同组间囊体数量和直径的显著性,显著性水平设置为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 直接摄食实验

由图 1 可见,被摄食 12 d 后,3 个直接摄食组中球形棕囊藻单细胞丰度分别只有 $(1.12 \pm 0.15) \times 10^5$, $(1.67 \pm 0.08) \times 10^5$ 和 $(0.78 \pm 0.09) \times 10^5$ 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$,均显著低于对照组的 $(1.91 \pm 0.23) \times 10^5$ mL^{-1} ($P < 0.05$);在安氏伪镖水蚤实验组中,囊体数量显著高于对照组 ($P < 0.05$),而游仆虫组和海洋尖尾藻组中囊体数量则显著低于对照组 ($P < 0.05$);3 个摄食组中球形棕囊藻的囊体直径均显著高于对照组 ($P < 0.05$),安氏伪镖水蚤实验组囊体最大,达到 $(166.53 \pm 49.52) \mu\text{m}$,游仆虫实验组为 $(132.80 \pm 37.71) \mu\text{m}$,海洋尖尾藻实验组最小,仅为 $(92.4 \pm 34.44) \mu\text{m}$;安氏伪镖水蚤实验组中囊体细胞数占总细胞数的 $(3.3 \pm 0.3)\%$,显著高于对照组,而游仆虫和海洋尖尾藻实验组中的囊体细胞占总细胞比例与对照组无显著差异 ($P > 0.05$)。同时,游仆虫的数量达到了 (43 ± 6) 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$,海洋尖尾藻的数量达到了 (665 ± 55) 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$,均显著提高 ($P < 0.05$)。

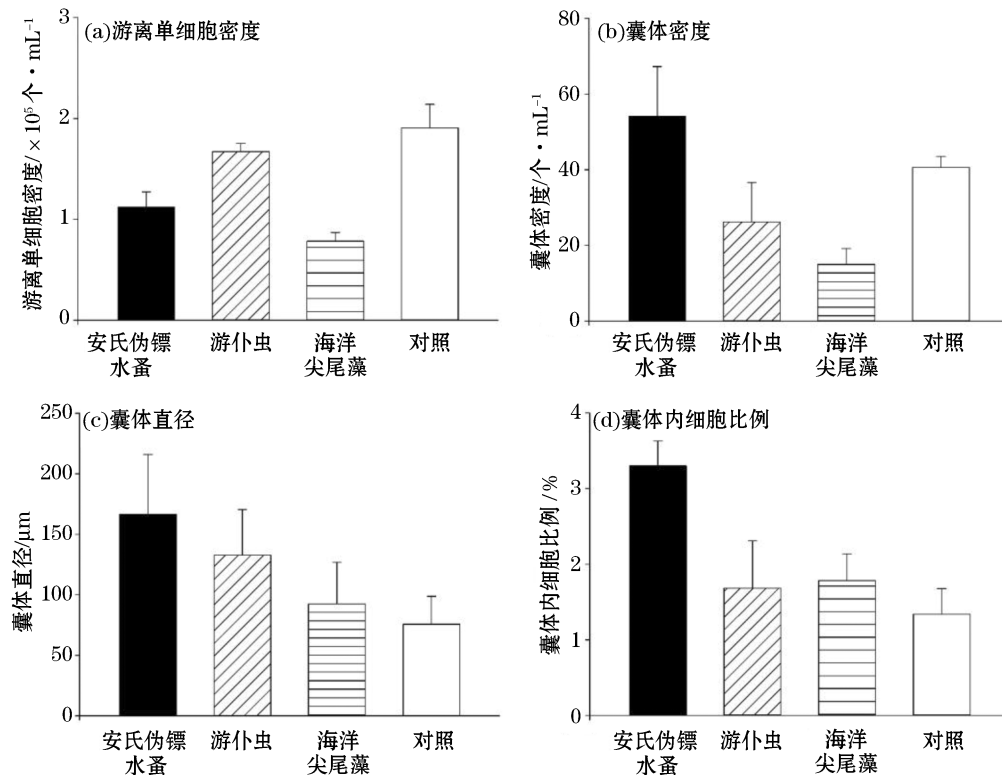


图 1 被直接摄食 12 d 后球形棕囊藻的单细胞密度、囊体数量、囊体直径和囊体细胞占总细胞的比例

Fig.1 The density of *P. globosa* solitary cells, the amount of colonies, the colony diameters and the proportion of colonial cells to the total cells after 12 days after exposure of the grazers

2.2 摄食信息实验

由图 2 可见,暴露于 3 种不同化学信号 12 d 后,各组中球形棕囊藻单细胞密度均与对照组无显著性差异($P > 0.05$);安氏伪镖水蚤和海洋尖尾藻化学信号组中囊体数量显著高于对照组($P < 0.05$),但是游仆虫化学信号组中的囊体数量与对照组并无显著性差异($P > 0.05$);安氏伪镖水蚤化学信号组中球形棕囊藻囊体直径达到(129.4 ± 41.42) μm ,显著高于对照组($P < 0.05$),而游仆虫和海洋尖尾藻化学信号组囊体直径与对照组并无显著差异($P > 0.05$);本次实验中,各实验组中囊体细胞的比例与对照组并无显著性差异($P > 0.05$)。

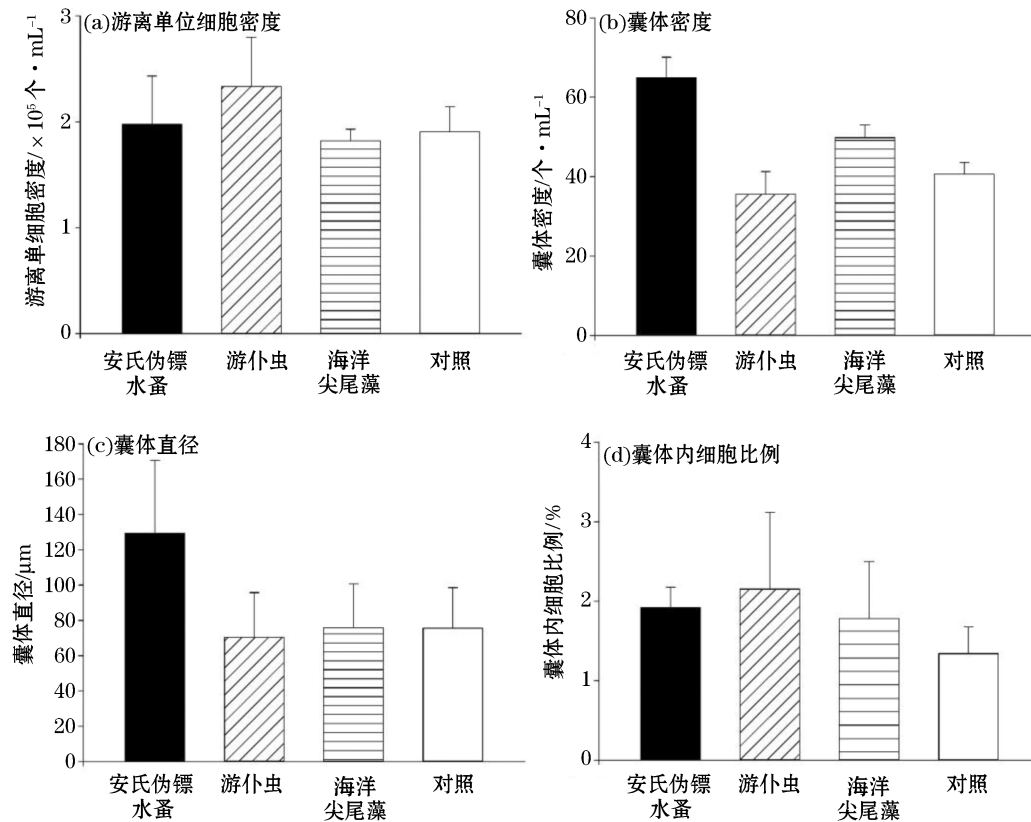


图 2 暴露于化学信号 12 d 后球形棕囊藻的单细胞密度、囊体数量、囊体直径和囊体细胞占总细胞的比例

Fig.2 The density of *P. globosa* solitary cells, the amount of colonies, the colony diameters and the proportion of colonial cells to the total cells after 12 days exposure to the chemical cues of the grazers

3 讨 论

在海洋生态系统中,浮游动物的摄食是浮游植物死亡的主要原因之一^[21]。海洋中能够进行球形棕囊藻摄食的摄食者种类繁多,其中桡足类、纤毛虫和异养甲藻是浮游植物主要的摄食者^[22]。为了生存、生长和种群的扩增,球形棕囊藻通过诱导性防御策略来抵御浮游动物的摄食^[16];在受到浮游动物摄食以及感受到浮游动物释放的化学信号后,其囊体直径扩大。

本实验选用了安氏伪镖水蚤、游仆虫和海洋尖尾藻三种粒径不同的摄食者,它们分别是我国沿海常见的桡足类、纤毛虫和异养甲藻,其粒径范围分别为 1~2 mm, 50~55 和 25~30 μm 。按照浮游动物摄食的粒径

理论^[23]以及相关研究^[22],这3种摄食者均能有效摄食球形棕囊藻游离单细胞。本研究结果同样支持上述结论:摄食实验组中的游离单细胞数量均显著低于对照组,纤毛虫和异养甲藻的数量显著提高,证明了3种浮游动物均有效摄食了游离单细胞。直接摄食不仅降低了单细胞的丰度,并且引发囊体直径的提高。直接摄食后,囊体体积的增大属于典型的诱导性防御策略,而且摄食者的粒径越大,球形棕囊藻的囊体直径增大越明显,这个现象可能归因于两点:1)球形棕囊藻面对粒径越大的摄食者时,能感受到越大的摄食压力,促使形成更大的囊体来抵御摄食;2)粒径较大的摄食者会摄食小体积囊体,从而使得囊体的平均直径增大。

在化学信号实验中,囊体直径的增大或囊体数目的增多,可能归因于存在摄食压力。暴露于安氏伪镖水蚤的滤出液后,囊体直径显著增大,数目显著增多;接触了海洋尖尾藻的滤出液后,囊体数目增多。这些现象表明:浮游动物在摄食过程中释放了化学信号,而球形棕囊藻能够感受到摄食压力,从而证明了化学信息在摄食和防御中的功能。3种浮游动物的直接摄食均导致球形棕囊藻囊体直径的提高,在化学信号实验组中,游离单细胞并未明显减少,安氏伪镖水蚤的化学信号却能促使球形棕囊藻囊体体积增大,而游仆虫和海洋尖尾藻的化学信号均未引起囊体体积显著增大,这可能说明:浮游动物的直接摄食可能会导致浮游植物出现更显著的防御策略,球形棕囊藻面对不同浮游动物释放的化学信号时,会出现不同的生理响应。安氏伪镖水蚤和海洋尖尾藻的化学信号均能引发球形棕囊藻囊体数量的增多,而游仆虫的化学信号未能引起囊体增多,进一步验证了不同浮游动物的化学信号会引发球形棕囊藻不同的防御策略。

根据 Long 等^[14]的研究,在桡足类摄食信息存在下,囊体的尺寸并没有发生显著变化。但是,在本次实验中球形棕囊藻囊体直径均明显增大,这可能与球形棕囊藻株系不同有关,Long 等^[14]的球形棕囊藻采样于墨西哥湾(CCMP 627),而本次实验所用株系采样于汕头球形棕囊藻藻华发生现场。不同株系的浮游植物经常面对同一环境因素时表现出不同的生理响应。这种适应性有利于它们在不同的环境下生存和发展。任何一种生物在长期进化过程中得以生存下来,都有其独特的生存策略,要么提高生长率,或者减少死亡率^[24-25]。球形棕囊藻在生长的各个阶段都面临着被摄食的可能,它们必须进化出相应的生存策略以降低摄食死亡率^[9]。球形棕囊藻具有典型的诱导性形态防御,即球形棕囊藻游离单细胞在摄食压力下会向囊体转化,有效地提高了生存率,降低了死亡率,有利于球形棕囊藻的生长和生物量的积累。

4 结 语

本次实验利用3种不同的摄食者,其直接摄食均引发了球形棕囊藻囊体直径的扩大,摄食者的粒径越大,球形棕囊藻的囊体直径也越大。此外,安氏伪镖水蚤的化学信号也能引发球形棕囊藻囊体显著增大,海洋尖尾藻的化学信号能使球形棕囊藻囊体数目提高。囊体的形成和增大保护了囊体内的单细胞,间接地降低了死亡率,有利于球形棕囊藻的生存和繁殖。

参考文献(References):

- [1] SCHOEMANN V, BECQUEVORT S, STEFEL J, et al. *Phaeocystis* blooms in the global ocean and their controlling mechanisms: a review[J]. *Journal of Sea Research*, 2005, 53(1): 43-66.
- [2] ROUSSEAU V, CHRETIENNOT-DINET M J, JACOBSEN A, et al. The life cycle of *Phaeocystis*: state of knowledge and presumptive role in ecology[J]. *Biogeochemistry*, 2007, 83(1-3): 29-47.
- [3] CHEN J F, XU N, JIANG T J, et al. A report of *Phaeocystis globosa* bloom in coastal water of Southeast China[J]. *Journal of Jinan University(Natural Science)*, 1999, 20(3), 124-129. 陈菊芳, 徐宁, 江天久, 等. 中国赤潮新记录种——球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*) [J]. 暨南大学学报(自然科学版), 1999, 20(3): 124-129.
- [4] QI Y Z, CHEN J F, WANG Z H, 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.
- [5] HAMM C E, SIMSON D A, MERKEL R, et al. Colonies of *Phaeocystis globosa* are protected by a thin but tough skin[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1999(187): 101-111.

- [6] VAN RIJSSEL M, HAMM C, GIESKES W. *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae) colonies; hollow structures built with small amounts of polysaccharides[J]. European Journal of Phycology, 1997, 32(2): 185-192.
- [7] ALDERKAMP A C, BUMA A G J, VAN RIJSSEL M. The carbohydrates of *Phaeocystis* and their degradation in the microbial food web [J]. Biogeochemistry, 2007, 83(1-3): 99-118.
- [8] WANG Y, QI Y Z, LI S S. Nutritional requirements for the growth of *Phaeocystis globosa* Scherffel[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2007, 31(1): 24-29. 王艳, 齐雨藻, 李韶山. 球形棕囊藻生长的营养需求研究[J]. 水生生物学报, 2007. 31(1): 24-29.
- [9] VERITY P, WHIPPLE S, NEJSTAGAARD, et al. Colony size, cell number, carbon and nitrogen contents of *Phaeocystis pouchetii* from western Norway[J]. Journal of Plankton Research, 2007, 29(4): 359-367.
- [10] SMAYDA T J. Harmful algal blooms: their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea[J]. Limnology and Oceanography, 1997, 42(5): 1137-1153.
- [11] BAUMANN M E M, LANCELOT C, BRANDINI F P, et al. The taxonomic identity of the cosmopolitan prymnesiophyte *Phaeocystis*: A morphological and ecophysiological approach[J]. Journal of Marine Systems, 1994, 5(1): 5-22.
- [12] HAMM C E. Architecture, ecology and biogeochemistry of *Phaeocystis* colonies[J]. Journal of Sea Research, 2000, 43(2): 307-315.
- [13] TANG K W. Grazing and colony size development in *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae): the role of a chemical signal[J]. Journal of Plankton Research, 2003, 25(7): 831-842.
- [14] LONG J D, SMALLEY G W, BARSBY T, et al. Chemical cues induce consumer-specific defenses in a bloom-forming marine phytoplankton[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2007, 104(25): 10512-10517.
- [15] LUNDGREN V. Grazer-induced defence in *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae): Influence of different nutrient conditions[J]. Limnology and Oceanography, 2010, 55(5): 1965-1976.
- [16] VAN DONK E, LSNORA A, VOS M. Induced defences in marine and freshwater phytoplankton: a review[J]. Hydrobiologia, 2011, 668(1): 3-19.
- [17] AMSLER C D. Algal chemical ecology[M]. Berlin: Springer, 2008: 2-19.
- [18] STROM S L. Microbial ecology of ocean biogeochemistry: a community perspective[J]. Science, 2008, 320(5879): 1043-1045.
- [19] WANG X, WANG Y, OU L, et al. Allocation costs associated with induced defense in *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae): the effects of nutrient availability[J]. Scientific Reports, 2015(5): 10850.
- [20] WANG X, TANG K W. Buoyancy regulation in *Phaeocystis globosa* scherffel colonies[J]. The Open Marine Biology Journal, 2010, 4(1): 115-121.
- [21] CALBET A, LANDRY M R. Phytoplankton growth, microzooplankton grazing, and carbon cycling in marine systems[J]. Limnology and Oceanography, 2004, 49(1): 51-57.
- [22] NEJSTGAARD J C, TANG K W, STETNKE M, et al. Zooplankton grazing on *Phaeocystis*: A quantitative review and future challenges[J]. Biogeochemistry, 2007, 83(1-3): 147-172.
- [23] DAVIDSON K, SAYEGHF F, MONTAGNES D J S. Oxyrrhis marina-based models as a tool to interpret protozoan population dynamics[J]. Journal of Plankton Research, 2011, 33(4): 651-663.
- [24] BERTNESS M D. Conflicting advantages in resource utilization: The hermit crab housing dilemma[J]. The American Naturalist, 1981, 118(3): 432-437.
- [25] TOLLRIAN R. Predator-induced morphological defenses: Costs, life history shifts, and maternal effects in *Daphnia puer*[J]. Ecology, 1995, 76(6): 1691-1705.

Defense Strategy of *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae) in Response to Different Grazing Pressure

DING Li, WANG Xiao-dong, WANG Yan

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

Abstract: *Phaeocystis*, a harmful algal species, has a unique polymorphic life cycle that involves the transformation between solitary cells and colonies. The colonial form is often the dominant morphotype during *Phaeocystis* blooms, but the transformation mechanism during the life cycle remains unclear. We conducted experiments in which cultures of *P. globosa* were exposed to copepods, ciliates and heterotrophic dinoflagellates as well as their chemical cues to study the effects of grazing on the life cycle in *P. globosa*. Our results demonstrated that colony diameters of *P. globosa* increased significantly in the presence of three grazers and the chemical cues of *Pseudodiaptomus annandalei*'s. The increase in diameter was dependent on the size of grazers. However, chemical cues released by *Eupoltes* sp. and *Oxyrrhis marina* did not cause increase in colony size. Therefore, colony formation and diameter enlargement could be considered as an induced defending strategy which protects the from being prey and may contribute to the bloom of *Phaeocystis* in marine ecosystems.

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

Received: June 26, 2017