

学校编码: 10384  
学 号: 33320131151726

密级\_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

现场藻华爆发期间东海原甲藻细胞周期  
定量蛋白质组学研究

Quantitative proteomic study of cell cycle of *Prorocentrum*  
*donghaiense* during the blooming period

刘 九 玲

指导教师姓名: 王大志 教授

专 业 名 称: 环 境 科 学

论文提交日期: 2016 年 04 月

论文答辩时间: 2016 年 05 月

2016 年 05 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

## 目 录

摘 要.....	V
Abstract.....	VII
缩略词表.....	IX
<b>第一章 前言</b> .....	<b>1</b>
1.1 海洋甲藻及其藻华概述.....	1
1.1.1 甲藻和有害藻华.....	1
1.1.2 主要藻华物种.....	2
1.1.3 甲藻藻华形成机制.....	3
1.2 细胞周期研究概况.....	4
1.2.1 细胞周期概述.....	4
1.2.2 细胞周期调控的分子机理.....	5
1.2.3 甲藻细胞周期调控.....	7
1.3 蛋白质组学及其在甲藻细胞周期研究中的应用.....	8
1.3.1 蛋白质组学概况.....	8
1.3.2 甲藻细胞周期蛋白质组学研究进展.....	11
1.4 本文研究目的和内容.....	12
<b>第二章 材料与方<b>法</b></b> .....	<b>15</b>
2.1 样品采集.....	15
2.2 细胞计数.....	16
2.3 流式细胞分析.....	16
2.3.1 现场样品预处理.....	16
2.3.2 样品测定及分析.....	16

2.4 光合色素及营养盐样品采集 .....	16
2.4.1 光合色素分析 .....	17
2.4.2 营养盐分析 .....	21
2.5 蛋白质样品处理与分析 .....	21
2.5.1 蛋白质提取 .....	21
2.5.2 还原烷基化 .....	22
2.5.3 蛋白质定量 .....	23
2.5.4 SDS 电泳 .....	24
2.5.5 蛋白质酶解与 iTRAQ 标记 .....	24
2.5.6 液相分离 .....	25
2.2.7 蛋白质的液质联用分析 .....	25
2.2.8 蛋白质生物信息学分析 .....	25
<b>第三章 藻华现场东海原甲藻细胞周期时相界定及相关参数研究 .....</b>	<b>29</b>
3.1 结果 .....	29
3.1.1 藻华现场东海原甲藻细胞周期时相界定 .....	29
3.1.2 细胞密度变化 .....	31
3.1.3 细胞色素变化 .....	31
3.1.4 浮游植物类群表征 .....	33
3.1.5 营养盐浓度变化 .....	35
3.2 讨论 .....	36
3.3 本章小结 .....	39
<b>第四章 藻华现场东海原甲藻细胞周期定量蛋白质组学研究 .....</b>	<b>40</b>
4.1 结果 .....	40
4.1.1 蛋白质鉴定及质谱数据质量控制 .....	40
4.1.2 蛋白质功能分布 .....	44

4.1.3 差异表达蛋白质统计和分布 .....	48
4.1.4 差异表达蛋白质通路富集分析 .....	50
4.1.5 细胞周期相关蛋白质的鉴定及定量 .....	52
4.1.6 G1 期中期差异表达蛋白 .....	53
4.2 讨论 .....	67
4.2.1 Gp-VS-Gm 差异表达蛋白 KEGG 通路富集分析 .....	67
4.2.2 Gm-VS-Ga 差异表达蛋白 KEGG 通路富集分析.....	71
4.2.3 Ga-VS-S 差异表达蛋白 KEGG 通路富集分析 .....	76
4.2.4 S-VS-M 差异表达蛋白 KEGG 通路富集分析.....	81
4.2.5 M-VS-Gp 差异表达蛋白 KEGG 通路富集分析 .....	82
4.2.6 细胞周期相关蛋白质 .....	83
4.2.7 不同细胞周期时相重要生物学过程比较（以 G1 期中期为主） .....	86
4.3 本章小结 .....	90
<b>第五章 结论与展望</b> .....	<b>93</b>
5.1 结论 .....	93
5.2 本论文的特色和创新点 .....	94
5.3 不足及展望 .....	94
参考文献 .....	96
附录 .....	109
硕士在读期间论文及学术研究情况.....	128
致 谢 .....	129

---

## Table of Contents

<b>Abstract (in Chinese)</b> .....	IV
<b>Abstract(in English)</b> .....	VI
<b>List of Abbreviations</b> .....	IX
<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	1
<b>1.1 Overview of harmful algae blooms</b> .....	1
1.1.1 Dinoflagellates and harmful algal bloom .....	1
1.1.2 Major causative species of harmful algal blooms .....	2
1.1.3 Formation mechanisms of dinoflagellate blooms.....	3
<b>1.2 Research progresses on cell cycle</b> .....	4
1.2.1 Overview of cell cycle .....	4
1.2.2 Molecular mechanisms involved in cell cycle regulation .....	5
1.2.3 Cell cycle regulation of Dinoflagellates .....	7
<b>1.3 Proteomics and its application in the study of dinoflagellate cell cycle</b> .....	8
1.3.1 Overview of proteomics .....	8
1.3.2 Research progresses on proteomics of dinoflagellate cell cycle .....	11
<b>1.4 Objectives and contents of the dissertation</b> .....	12
<b>Chapter 2 Materials and methods</b> .....	15
<b>2.1 sample collection</b> .....	15
<b>2.2 cell counting</b> .....	16
<b>2.3 Flow cytometric analysis</b> .....	16
2.3.1 Pretreatment of <i>in situ</i> samples.....	16
2.3.2 Analysis of samples .....	16

<b>2.4 Photosynthetic pigment and nutrient analysis</b> .....	16
2.4.1 Photosynthetic pigment analysis .....	17
2.4.2 Nutrients analysis .....	21
<b>2.5 Protein sample analysis</b> .....	21
2.5.1 Protein extraction.....	21
2.5.2 Reductive alkylation.....	22
2.5.3 Protein quantitation .....	23
2.5.4 SDS electrophoresis.....	24
2.5.5 Protein digestion and iTRAQ labeling .....	24
2.5.6 HPLC separation .....	25
2.2.7 LC-MS/MS analysis .....	25
2.2.8 Bioinformatics analysis .....	25
<b>Chapter 3 Determination of cell cycle phases and the related parameter analysis of <i>in situ</i> algal bloom</b> .....	29
<b>3.1 Results</b> .....	29
3.1.1 Determination of cell cycle phases.....	29
3.1.2 Variations of cell density within a cell cycle .....	31
3.1.3 Variations of pigment concentration within a cell cycle.....	31
3.1.4 Phytoplankton taxa characterization.....	33
3.1.5 Variations of nutrient concentration .....	35
<b>3.2 Discussion</b> .....	36
<b>3.3 Summary</b> .....	39
<b>Chapter 4 Quantitative proteomic study of cell cycle of <i>Prorocentrum donghaiense</i> during the blooming period</b> .....	40
<b>4.1 Results</b> .....	40



---

4.1.1 Protein identification and quality control of MS data .....	40
4.1.2 Functional analysis of the identified proteins.....	44
4.1.3 Functional analysis of differentially expressed proteins .....	48
4.1.4 Pathway enrichment of differentially expressed proteins.....	50
4.1.5 Identification and quantitation of cell cycle related proteins .....	52
4.1.6 Differentially expressed proteins in middle G1 phase .....	53
<b>4.2 Discussion .....</b>	<b>67</b>
4.2.1 Gp-VS-Gm KEGG pathway enrichment analysis.....	67
4.2.2 Gm-VS-Ga KEGG pathway enrichment analysis .....	71
4.2.3 Ga-VS-S KEGG pathway enrichment analysis.....	76
4.2.4 S-VS-M KEGG pathway enrichment analysis .....	81
4.2.5 M-VS-Gp KEGG pathway enrichment analysis .....	82
4.2.6 Cell cycle related proteins .....	83
4.2.7 Essential cellular events network in middle G1 phase .....	86
<b>4.3 Summary .....</b>	<b>90</b>
<b>Chapter 5 Summary and prospect .....</b>	<b>93</b>
5.1 Conclusion.....	93
5.2 Creativity.....	94
5.3 Prospect .....	94
<b>References.....</b>	<b>96</b>
<b>Appendix.....</b>	<b>109</b>
<b>Academic activities.....</b>	<b>128</b>
<b>Acknowledgements.....</b>	<b>129</b>

## 摘要

东海原甲藻 (*Prorocentrum donghaiense*) 是中国近海主要有害藻华种, 几乎每年都会引发大规模的有害藻华, 对海洋生态系统、海洋生物资源和水产养殖造成了严重威胁, 并且影响公众健康。尽管目前对东海原甲藻藻华形成的海洋学和生态学机制开展了大量研究, 但对现场藻华形成过程中东海原甲藻细胞生长调控的分子机制知之甚少。

本论文以现场东海原甲藻藻华为研究对象, 运用基于质谱的定量蛋白质组学技术—iTRAQ (isobaric tags for relative and absolute quantitation) 技术, 并结合相应的转录组数据, 比较研究了现场藻华细胞不同细胞周期时相的蛋白质表达谱, 确认、鉴定了差异表达蛋白, 分析了细胞周期进程中重要功能蛋白的差异表达及其参与的生物学过程, 从蛋白质组角度探讨了现场甲藻细胞周期调控机理和藻华爆发的分子机制。主要研究结果如下:

(1) 光学显微镜和浮游植物色素表征结果表明, 藻华爆发现场的主要物种为东海原甲藻。藻华现场与实验室培养的东海原甲藻的细胞周期时相一致, 均在 24 小时内完成一个完整的细胞周期, 且每个细胞周期时相持续时间相同, 表明藻华的爆发并不是细胞异常增殖的结果, 而可能是细胞生长累积和聚集的结果。此外, 细胞密度、色素含量和营养盐浓度等在一个细胞周期内也呈现较大的波动趋势, 可能与不同细胞周期细胞内发生的生物学过程相关。

(2) 本研究鉴定到 6,118 个高可信度蛋白质, 其中两个特有肽段及以上的蛋白质有 2,595 个, 它们主要参与碳水化合物代谢、氨基酸代谢、翻译、折叠分选降解和能量代谢等过程。不同细胞周期时相的蛋白质表达谱的比较研究发现, 在 G1 期, 细胞内发生的主要生物过程包括碳水化合物、能量代谢和氨基酸代谢; 在 S 期和 G2/M 期, 细胞则主要进行 DNA 复制和修复、泛素调节的蛋白质降解与蛋白质合成等过程。这些过程随细胞周期时相时序性表达, 它们的协同作用确保了细胞增殖和各种代谢活动的正常进行。

(3) 本研究鉴定到 8 种在不同细胞周期时相存在表达差异的细胞周期相关蛋白, 它们在调控细胞周期进程中起重要作用。其中 CDK2、CDC48、CDC37、

PCNA 和 E3s 在 S 期表达量最高; DIP13 的表达量在 M 期达最大值。在 G1 中期 (Gm), CDK2、FtsH 和 DIP13 的表达量最低, 而 Skp1 和 MAPK 的表达量最高; 在 G1 前期 (Ga) 和后期 (Gp) 这些蛋白质的表达量差异不大。CDK2 作为参与细胞周期调控的重要内源性分子首次在甲藻细胞中被鉴定到。

(4) Gm 是现场海区光照强度和海水温度最高的一个时期。相比于其它四个时期, 该期细胞中有 52 个蛋白质的表达显著上调, 128 个蛋白质的表达显著下调, 它们主要参与复制、转录、翻译、修饰及蛋白质降解, 能量代谢、碳水化合物代谢和氨基酸代谢等过程。此外, 与实验室培养的东海原甲藻相比, Gm 期细胞内发生的主要生物学过程存在一定的差异: ABC 转运、ROS 清除防御机制和光能捕获等过程高表达; 而转录、翻译、蛋白质修饰和降解、脂肪酸合成、丙酮酸代谢、嘌呤核苷酸循环和信号转导途径等低表达。这些过程的差异表达可能是细胞对现场复杂环境的一种适应机制。

**关键词:** 海洋甲藻; 有害藻华; 东海原甲藻; 藻华现场; 细胞周期; 定量蛋白质组学

## Abstract

*Prorocentrum donghaiense* is a key dinoflagellate species causing harmful algal blooms in the coastal waters of China, which results in severe threats to marine ecosystems, marine biological resources, aquaculture industries and public health. Although much effort has been devoted to the oceanographic and ecological mechanisms of bloom formation of *P. donghaiense*, little is known about the molecular mechanisms involved in cell growth regulation of *P. donghaiense* during the period of bloom formation.

This study focused on the cell cycle of *in situ* blooming cells of *P. donghaiense*, compared protein expression profiles of cells collected at different cell cycle phases using the combination of iTRAQ-based proteomic approach and corresponding transcriptome databases, identified and confirmed the differentially expressed proteins, analyzed the expression variations of cell cycle related proteins and the biological processes they participated in, and discussed the mechanisms involved in cell cycle regulation and bloom formation of *P. donghaiense*. The major results were shown as follows:

(1) Almost all blooming cells were *P. donghaiense* cells based on the results of light microscope and phytoplankton pigment analysis. The cell cycle phase distributions were the same between *in situ* blooming *P. donghaiense* cells and laboratory culture cells: both of them completed a whole cell cycle within 24 hours and possessed an identical duration time for each phase, indicating that the outbreak of algal blooms was not caused by the abnormal proliferation of cells within a short time, but might be resulted from accumulation and aggregation of cells. In addition, variations of cell density, pigment content and nutrient concentration within a cell cycle might be related to the biological processes occurred in each cell cycle phase.

(2) A total of 6,118 high-confidence proteins were identified and 2,595 obtained an assignment with two or more peptides. These proteins mainly participated in

carbohydrate metabolism, amino acid metabolism, translation, folding, sorting and degradation and energy metabolism. Comparative proteomic analysis of cells from different cell cycle phases revealed that carbohydrate metabolism, energy metabolism and amino acid metabolism were more active in G1 phase; while the most representative processes were DNA replication and repair, protein biosynthesis and ubiquitin-mediated protein degradation in S phase and G2/M phase. The orderly expressions of proteins involved in these biological processes might guarantee cell proliferation and various metabolic activities of *P. donghaiense* cells during the blooming period.

(3) Eight cell cycle related proteins were successfully identified and their expression altered in different cell cycle phases: CDK2, CDC48, CDC37, PCNA and E3s were most abundant in S phase; the highest expression levels of Skp1 and MAPK, and DIP13 were observed in middle G1 (G<sub>m</sub>) phase and M phase, respectively; CDK2, FtsH and DIP13 showed a lowest expression level in G<sub>m</sub> phase. As an important endogenesis protein related to cell cycle regulation, CDK2 was identified in dinoflagellates for the first time.

(4) Compared to other four cell cycle phases, 52 proteins were up-regulated and 128 were down-regulated in G<sub>m</sub> phase, these proteins were mainly related to replication, transcription, translation, protein modification and degradation, energy metabolism, carbohydrate metabolism and amino acid metabolism. Moreover, major biological processes occurred in the *in situ* blooming cells presented some differences compared to the laboratory culture cells: ABC transport, ROS removal and defense, and light harvesting were enhanced, while protein metabolism, fatty acid biosynthesis, pyruvate metabolism, purine nucleotide metabolism and signal transduction were depressed. The differential expression levels of these processes suggested an adaptive mechanism of *P. donghaiense* cells to complex environment.

**Key words:** Marine dinoflagellates; harmful algal blooms; *Prorocentrum donghaiense*; *in situ* algal blooms; cell cycle; quantitative proteomics

## 缩略词表

缩写	英文名称	中文名称
2D-DIGE	Two-dimensional difference gel electrophoresis	荧光差异凝胶双向电泳
2-DE	Two dimensional electrophoresis	双向电泳
ACN	Acetonitrile	乙腈
ACP	Acyl carrier protein	酰基载体蛋白
ATP	Adenosine triphosphate	三磷酸腺苷
BLAST	Basic local alignment search tool	基于局部比对算法的搜索工具
BSA	Bovine serum albumins	牛血清蛋白
CDS	Coding sequence	编码序列
CHAPS	3-[(3-Cholamidopropyl) dimethylammonio] propanesulfonic acid	3-[(3-胆酰胺基丙基)二甲基铵基]-1-丙磺酸
CoA	Coenzyme A	辅酶 A
COG	Clusters of Orthologous Groups of proteins	蛋白质直系同源数据库
DNA	Deoxyribonucleic acid	脱氧核糖核酸
RNA	Ribonucleic acid	核糖核酸
DTT	Dithiothreitol	二硫苏糖醇
GO	Gene Ontology	基因本体注释
HPLC	High performance liquid chromatography	高效液相色谱
IAM	Iodoacetamide	碘乙酰胺
iTRAQ	isobaric Tags for Relative and Absolute Quantitation	同位素标记相对和绝对定量
KEGG	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes	京都基因与基因组百科全书
CDK	Cyclin-dependent kinase	细胞周期蛋白依赖性激酶
CKI	Cyclin-dependent kinase inhibitor	周期蛋白依赖性激酶抑制因子
MAPK	Mitogen activated protein kinase	有丝分裂原激活蛋白激酶
Wee1	Wee1-like protein kinase	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族
PCNA	Proliferating cell nuclear antigen	增殖细胞核抗原蛋白
NCBI	National Center for Biotechnology Information	国家生物技术信息中心 (美国)
PBS	Phosphate buffered saline	磷酸盐缓冲液
SAM	S-adenosylmethionine	活性腺苷甲硫胺酸
SCX	Strong cation exchange	强阳离子交换
HABs	Harmful Algal Blooms	有害藻华
TCA	Tricarboxylic acid	三羧酸
TEAB	Tetraethyl-ammonium bromide	溴化四乙铵
Tris	Hydroxymethyl aminomethane	三羟甲基氨基甲烷
CNBP	cellular nucleic acid- binding protein,	细胞核酸结合蛋白

## 第一章 前言

### 1.1 海洋甲藻及其藻华概述

#### 1.1.1 甲藻和有害藻华

甲藻在海洋与淡水生态系统中广泛分布，是主要的浮游藻类之一。通常甲藻具有两条鞭毛，因而又常被称为“双鞭毛藻”或“双鞭毛虫”。甲藻多为单细胞、可游动的生物，细胞内含有一个或多个色素体，色素体内包含叶绿素 *a*、*c*， $\beta$ -胡萝卜素以及甲藻所特有的色素，如硅甲藻素和甲藻黄素等。研究发现，甲藻是一类介于原核与真核生物之间的过渡类型生物，称为间核生物(mesokaryote)<sup>[1]</sup>，生活方式一般为自养，少数腐生或寄生，很多种类具有兼性营养能力<sup>[2]</sup>。

甲藻在海洋生态系中占有极其重要的地位，它可以通过光合作用合成有机物，是重要的初级生产者和食物链(网)的重要组成部分<sup>[3]</sup>。作为海洋小型浮游动物的主要饵料之一，甲藻合成有机物的能力可以作为海洋特别是近海海洋初级生产力的指标。而作为一种运动的细胞，甲藻能够响应多种环境因素，从而进行定向移动，包括趋光性、趋地性和趋药性，分别受到光、地心引力和化学刺激物的作用。甲藻除具有重要的生态作用外，由其引发的有害藻华(Harmful Algal Blooms, HABs)更是引起各国政府、学者以及公众的高度重视。

有害藻华是在特定环境条件下，海水中某些微生物(浮游植物、原生动物或细菌)短时间内大量聚集或过度增殖而引起水体变色，并对环境造成不良影响的一种生态异常现象。近年来，由于人类活动加剧和全球环境变化，有害藻华呈现全球化发展态势，发生区域扩大、频率增加、规模增大、危害加剧，已成为全球关注的一个热点，是当前全球面临的一个重要环境和健康问题。

有害藻华能通过多种方式对海洋生物造成危害，从而导致海洋生态系统结构破坏与功能失调。有害藻华发生时，表层高度聚集的藻华生物阻挡阳光和氧气到达水体的深度，竞争性消耗水体中的营养物质及大量的  $\text{CO}_2$ ，水体环境随之变化，从而影响各类海洋生物的生理活动，导致生物群落结构发生改变。有害藻华对海洋生态环境最直观的破坏体现在给水产资源和海洋渔业带来巨大的经济损失上。1998年9月，渤海发生的有害藻华面积达6000平方公里，造成各种经济损失达

6.5 亿元<sup>[4]</sup>。一些藻华生物（如夜光藻等）产生的粘液附着在贝类和鱼类的鳃上，妨碍其呼吸，导致海洋生物窒息而死。此外，许多藻华生物能生产毒素，导致海洋动物因毒素的积累和食物链传递作用而中毒死亡或生长繁殖受到影响，进而危害生态安全和海洋产业的可持续发展。有毒藻华对人类健康也构成很大威胁，除了直接接触藻华生物引起皮肤感染，藻华生物挥发性毒素还能对呼吸道和眼鼻产生影响外，甲藻毒素还通过食物链的传递作用，引起人类中毒甚至死亡<sup>[5]</sup>。由毒素引发的人类中毒事件在世界各地沿海地区时有发生，根据国家海洋局海洋灾害公报统计，全球因藻毒素中毒事件高达 300 多起，死亡人数多达 300 余人<sup>[6]</sup>。

### 1.1.2 主要藻华物种

在水体中能够大量繁殖并引发有害藻华的生物，统称为有害藻华生物，包括浮游微藻和少数原生动物和细菌。浮游微藻是海洋中最重要的初级生产者，也是引发有害藻华的主要生物，研究浮游微藻的生态动力学，阐明有害藻华的发生机制，探索预警、预报乃至防治的方法已成为摆在海洋学家、生物和生态学家面前的一个极具挑战性的课题<sup>[7]</sup>。

据统计，在 4,100 多种海洋浮游微藻中有 337 种能形成有害藻华，其中有 76 种能生产毒素；且甲藻引发有害藻华的比例最多（184 种，大于 55%），是形成有害藻华的主要原因种<sup>[8-10]</sup>。在全球范围内引起有害藻华的甲藻中有近一半种类能够产生毒素，因而甲藻藻华已成为当前危害最大、研究最多的一类藻华。常见的引发有害藻华的甲藻有：夜光藻、塔玛亚历山大藻、东海原甲藻、微小原甲藻、短裸甲藻、链状裸甲藻、米氏裸甲藻和叉状角藻等。

由于气候条件和营养盐状态等的不同，不同国家或地区引发藻华的浮游微藻种类并不完全相同。以我国为例，我国近海是全球近海藻华灾害最严重的海域之一，南海海域引起有害藻华的常见种有裸甲藻、夜光藻、锥状斯克里普藻、海链藻、赤潮异弯藻和中肋骨条藻等；黄海海域常见的藻华种有夜光藻、链状裸甲藻、中肋骨条藻、海链藻和赤潮异弯藻等；渤海海域常见的藻华种有中肋骨条藻、夜光藻、米氏凯伦藻和微小原甲藻等；东海海域常见的藻华种有东海原甲藻、中肋骨条藻、夜光藻、米氏凯伦藻、链状亚历山大藻、微小原甲藻和裸甲藻等。在 80 年代至 90 年代中期，我国沿海的藻华种以中肋骨条藻和夜光藻为主，但到了



Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.