

6 种赤潮甲藻对荧光标记藻类的吞噬行为研究*

张淑雯 张云 欧林坚 齐雨藻 吕颂辉

(暨南大学赤潮与海洋生物学研究中心 广州 510632)

提要 选取 6 种在中国沿海广泛分布的赤潮甲藻米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)、链状亚历山大藻(*Alexandrium catenella*)、东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)、海洋原甲藻(*Prorocentrum micans*)、微小原甲藻(*Prorocentrum minimum*)和锥状斯氏藻(*Scrippsiella trochoidea*), 采用经 5-(4,6-二氯三嗪基)氨基荧光素(DTAF)标记灭活的荧光饵料藻进行投喂, 观察目标甲藻是否存在吞噬行为, 研究光照、营养盐条件对目标甲藻的吞噬行为的影响。结果发现, 链状亚历山大藻能吞噬旋转海链藻(*Thalassiosira curviseriata*), 东海原甲藻能摄食球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*), 但其摄食概率非常低, 且不受光照和营养盐条件的影响。实验中, 未观测到米氏凯伦藻、海洋原甲藻、微小原甲藻和锥状斯氏藻的吞噬行为。在黑暗中培养 48—72h 后, 目标甲藻均出现不同程度的死亡, 尤其是东海原甲藻和链状亚历山大藻。虽然东海原甲藻和链状亚历山大藻具吞噬行为属于混合营养生物, 但光合自养是目标甲藻获取营养、维持生长最主要的方式。

关键词 甲藻, 吞噬行为, 荧光标记藻类, 混合营养

中图分类号 P735

近年来, 一些过去被认为是专营光合自养的甲藻种类, 经证明具有吞噬营养行为和能力而成为混合营养生物(Jeong *et al*, 2005; Stoecker *et al*, 2006)。已有的研究表明, 甲藻和定鞭藻类可能普遍具有吞噬营养行为, 至今尚未在硅藻、褐藻、红藻、绿藻和原核蓝细菌中发现吞噬营养行为(Stoecker *et al*, 2006; Carvalho *et al*, 2008)。鉴于近年来全球范围内甲藻赤潮的频繁爆发, 甲藻的混合营养机制及其在甲藻赤潮发生及发展中的作用成为新的研究热点(Jeong *et al*, 2005; Glibert *et al*, 2009; Crane *et al*, 2010; Kang *et al*, 2010; 张清春等, 2012)。

与专营自养或异养的生物相比, 混合营养生物的竞争优势在于能够调整其多样的营养模式适应外界环境快速的变化, 尤其是在藻类受到光强或营养盐等限制无法进行正常的光合自养时(Callieri *et al*, 2006; Burkholder *et al*, 2008; 孙军等, 2011)。甲藻还可以通过直接摄食的方式减少生境中的竞争对手

(Kang *et al*, 2010)。混合营养可能是赤潮甲藻的一项重要的营养生理适应策略(Smayda *et al*, 2003; Jeong *et al*, 2005)。虽然已有部分研究者展开甲藻吞噬营养及混合营养机制研究, 但是研究成果还比较零星, 缺乏系统性, 对于绝大多数赤潮甲藻是否存在吞噬营养行为及该行为在藻类生长中的作用尚不清楚(Carvalho *et al*, 2010)。而已有的研究表明, 自养和异养的比例在不同的甲藻种类中存在较大差别(Flöder *et al*, 2006; Burkholder *et al*, 2008)。

本文选取 6 种在中国沿海广泛分布的赤潮甲藻: 米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)、链状亚历山大藻(*Alexandrium catenella*)、东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)、海洋原甲藻(*Prorocentrum micans*)、微小原甲藻(*Prorocentrum minimum*)和锥状斯氏藻(*Scrippsiella trochoidea*), 采用经 5-(4,6-二氯三嗪基)氨基荧光素(DTAF)标记灭活的荧光饵料藻进行投喂, 观察目标甲藻是否存在吞噬行为, 研究光照、营养盐

* 国家重点基础研究发展计划(973)项目, 2011CB403603 号; 国家自然科学基金资助项目, 41176087 号, 40806058 号; 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目, 21611205 号。张淑雯, E-mail: shuwen0626@163.com

通讯作者: 欧林坚, 博士, 副研究员, E-mail: torangeou@jnu.edu.cn

收稿日期: 2011-12-31, 收修改稿日期: 2012-02-28

条件对目标甲藻的吞噬行为的影响, 探讨目标甲藻的吞噬营养模式对其获取营养、生理生长的贡献。

1 材料与方法

1.1 实验材料及培养条件

目标甲藻米氏凯伦藻、链状亚历山大藻、东海原甲藻、海洋原甲藻、微小原甲藻和锥状斯氏藻及饵料藻球等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*)、骨条藻 (*Skeletonema* sp.)、旋转海链藻 (*Thalassiosira curviseriata*) 来自暨南大学赤潮与海洋生物学研究中心藻种库, 饵料藻聚球藻 (*Synechococcus cfelongates*) 由厦门大学近岸海域环境科学国家重点实验室海洋微生物保种中心提供。为了达到实验所要求的富营养条件, 目标甲藻长期用灭菌的 *f/2* 培养基培养, 而低营养要求的目标甲藻则用灭菌的 *f/20* 培养基培养。其它培养条件为: 光暗周期 L D = 12 12, 光照 60 μ E/(m²·s), 温度(20 \pm 1) $^{\circ}$ C。采用 Retiga 4000R(Fast1394)图像分析系统, 按照细胞的宽度和深度相等的原则(Verity *et al.*, 1992), 根据 Hillebrand 等(1999)建立的公式计算细胞体积, 并将其体积转换成细胞碳含量(Deuer *et al.*, 2000)。实验前, 采用 DAPI 染色法检测藻种是否染菌, 在荧光显微镜紫外激发光波段下观察, 基本排除杂菌的影响。

按 Rublee 等(1989)的方法将饵料藻制备成荧光标记藻类(Fluorescent labeled algae, FLA), 包括有球等鞭金藻(FLIg)、骨条藻(FLS)、旋转海链藻(FLTc)和聚球藻(FLSc), 冻存备用。

1.2 光照和营养盐对混合培养中的目标甲藻吞噬行为的影响

目标甲藻分别培养在 *f/2* 和 *f/20* 培养基中, 待生

长至指数生长期, 分别移取 40ml 藻液到容积为 100ml 的已灭菌的锥形瓶中, 根据细胞碳含量 1:1 的原则分别向锥形瓶中添加饵料藻 FLIg、FLS、FLTc 和 FLSc(起始密度见表 1)。摇匀后, 将混合藻液分成两组, 一组置于黑暗环境中培养, 另一组置于正常光照下培养, 温度为(20 \pm 1) $^{\circ}$ C, 每组设两个平行。分别在混合培养后的 6、24、48 和 72h 时, 取 1ml 藻液, 在荧光显微镜的明场及蓝光波段($E_x = 460-495$ nm, $E_m > 510$ nm)下切换观察甲藻是否具有吞噬行为, 并记录有吞噬行为的甲藻数目及摄入的饵料藻的数量, 每种目标甲藻的细胞观测数均 >200 个。观测时目标甲藻在培养基中游动, 当观测到有吞噬行为的甲藻时, 通过跟踪观测, 调节焦距, 轻轻敲震盖玻片的方式确定 FLA 位于甲藻细胞内部而非粘附在细胞表面。

1.3 不同黑暗时间对目标甲藻吞噬行为的影响

各取 100ml 在 *f/2* 和 *f/20* 培养基中的目标甲藻, 在黑暗条件下培养 24、48 和 72h 后, 取 20ml 藻液与 FLA 混合(如表 1 所示), 每组设两个平行。继续黑暗培养 4—6h 后取样, 在荧光显微镜的明场及蓝光波段下切换观察目标甲藻是否具有吞噬行为, 并计算目标甲藻细胞摄入 FLA 的个数, 每种甲藻细胞观测数均 >200 个。

2 结果

2.1 光照和营养盐对混合培养中的目标甲藻吞噬行为的影响

6 种目标甲藻与 FLA 混合培养后的 6—24h, 无论是有光或是黑暗条件, 均观测到目标甲藻在显微镜视野下快速游动, 表明它们生理状态良好。但在黑暗条件下混合培养 48—72h 后, 6 种目标甲藻均出现不

表 1 实验中藻种的体积、碳含量及起始浓度
Tab.1 Volumes, carbon biomasses and initial concentrations of tested species

藻种	细胞体积(μm^3)	细胞碳含量 (pgC/cell)	起始细胞密度(cells/ml)	
			<i>f/2</i>	<i>f/20</i>
链状亚历山大藻	9486.6 \pm 456.4	1363.0 \pm 53.6	8.5 \times 10 ³	5.8 \times 10 ³
锥状斯氏藻	7968.0 \pm 438.8	1178.2 \pm 53.6	8.0 \times 10 ³	5.5 \times 10 ³
米氏凯伦藻	8809.6 \pm 398.0	1283.7 \pm 47.9	6.6 \times 10 ³	3.4 \times 10 ³
海洋原甲藻	12905.0 \pm 510.1	1757.9 \pm 57.6	7.6 \times 10 ³	3.1 \times 10 ³
东海原甲藻	818.9 \pm 44.6	182.8 \pm 8.2	2.8 \times 10 ⁴	2.2 \times 10 ⁴
微小原甲藻	1005.7 \pm 45.1	217.0 \pm 8.0	3.4 \times 10 ⁴	2.6 \times 10 ⁴
球等鞭金藻(FLIg)	60.6 \pm 4.0	10.9 \pm 0.7	(0.5—2.0) \times 10 ⁶	(0.4—1.5) \times 10 ⁶
骨条藻(FLS)	482.5 \pm 35.3	42.4 \pm 2.5	(1.0—3.0) \times 10 ⁵	(1.0—2.0) \times 10 ⁵
旋转海链藻(FLTc)	220.2 \pm 12.9	22.6 \pm 1.1	(3.0—5.0) \times 10 ⁵	(2.0—4.0) \times 10 ⁵
聚球藻(FLSc)	1.0 \pm 0.7	0.1 \pm 0.1	(1.0—3.0) \times 10 ⁶	(1.0—3.0) \times 10 ⁶

同程度的死亡, 黑暗培养时间越长, 甲藻的死亡率越高; 至 72h, 80%—90% 的东海原甲藻和链状亚历山大藻细胞死亡。相比较而言, 只有部分锥状斯氏藻死亡, 存活率较高, 其次为海洋原甲藻和米氏凯伦藻。该结果表明在黑暗环境下, 东海原甲藻和链状亚历山大藻等无法通过异养或吞噬营养的方式长时间维持生存。

在 *f/2* 培养基中, 正常光照及黑暗条件下混合培养 6h 后, 观察 >200 细胞, 各观测到 1 个游动的链状亚历山大藻细胞摄食 2—3 个 FLTc(图 1), 表明链状亚历山大藻具有吞噬能力, 为混合营养生物, 但其发生摄食的概率极低。混合培养 24、48 和 72h 后, 未再观测到链状亚历山大藻对 FLTc 的摄食。实验中未观测到链状亚历山大藻对 FLI_g、FLS 和 FLSc 的吞噬, 亦未观测到米氏凯伦藻、东海原甲藻、海洋原甲藻、微

小原甲藻和锥状斯氏藻对任何一种 FLA 的摄食(表 2)。

低营养的 *f/20* 培养基中, 在黑暗条件下混合培养 24h 后, 观察 >200 细胞, 观测到 2 个游动的东海原甲藻细胞各摄食 1 个和 2 个 FLI_g(图 2), 表明东海原甲

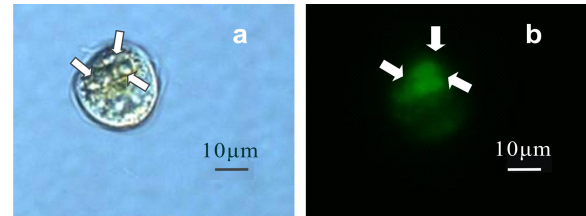


图 1 链状亚历山大藻摄食 3 个荧光标记海链藻
Fig.1 Ingestions of three fluorescent labeled cells of *T. curviseriata* by *A. catenella* under epifluorescence microscopy
a. 明场; b. 蓝光波段

表 2 富营养条件下 6 种甲藻在混合培养不同阶段(h)对荧光标记的球等鞭金藻(FLI_g)、旋转海链藻(FLTc)、聚球藻(FLSc)和骨条藻(FLS)的摄食

Tab.2 Phagotrophic behaviors of six dinoflagellates on fluorescent labeled *I. galbana* (FLI_g), *T. curviseriata* (FLTc), *S. cfelongates* (FLSc) and *Skeletonema* sp. (FLS) under the eutrophic condition with time (h)

实验藻种	饵料藻	正常光照(h)				黑暗培养(h)			
		6	24	48	72	6	24	48	72
链状亚历山大藻	FLI _g	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLTc	Y	N	N	N	Y	N	N	N
	FLSc	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLS	N	N	N	N	N	N	N	N
东海原甲藻	FLI _g	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLTc	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLSc	N	N	N	N	N	N	N	N
海洋原甲藻	FLI _g	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLTc	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLSc	N	N	N	N	N	N	N	N
锥状斯氏藻	FLI _g	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLTc	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLSc	N	N	N	N	N	N	N	N
微小原甲藻	FLI _g	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLTc	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLSc	N	N	N	N	N	N	N	N
米氏凯伦藻	FLI _g	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLTc	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLSc	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLS	N	N	N	N	N	N	N	N

注: “Y”表示观测到目标甲藻的吞噬营养行为, “N”表示未观测到吞噬营养行为

藻具有吞噬能力, 但发生摄食的概率极低。实验中未观测到东海原甲藻对 FLTc、FLS 和 FLSc 的摄食, 也未观测到米氏凯伦藻、链状亚历山大藻、海洋原甲藻、微小原甲藻和锥状斯氏藻对 FLA 的摄食(表 3)。

2.2 不同黑暗时间对目标甲藻吞噬行为的影响

黑暗培养 24h 时, 低/富培养基中的 6 种甲藻的生理活性均表现良好。48—72h 后, 甲藻的游动速度开始减慢, 东海原甲藻、微小原甲藻、链状亚历山大藻、米氏凯伦藻、海洋原甲藻出现部分藻细胞死亡的现象, 锥状斯氏藻的生理状态较其它种类好。黑暗培养时间越长, 藻细胞的死亡率也越高。该结果表明, 光合自养是几种甲藻获取营养的主要方式。

无论是在何种培养条件下, 经过不同的黑暗培养时间添加饵料藻后, 均未发现目标甲藻的吞噬行为。

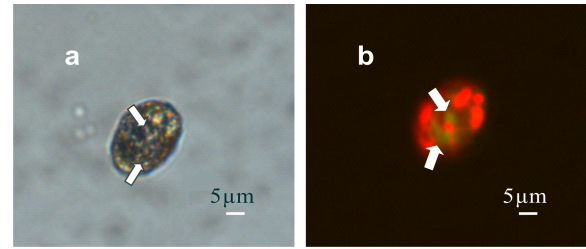


图 2 东海原甲藻摄食 2 个荧光标记的球等鞭金藻
Fig.2 Ingestions of two fluorescent labeled cells of *I. galbana* by *P. donghaiense* under epifluorescence microscopy
a. 明场; b. 蓝光波段

表 3 低营养条件下 6 种甲藻在不同混合培养阶段(h)对荧光标记的球等鞭金藻(FLIg)、旋转海链藻(FLTc)、聚球藻(FLSc)和骨条藻(FLS)的摄食

Tab.3 Phagotrophic behaviors of 6 dinoflagellates on fluorescent labeled *I. galbana* (FLIg), *T. curviseriata* (FLTc), *S. cfelon-gates* (FLSc) and *Skeletonema* sp. (FLS) under the oligotrophic condition with time (h)

实验藻种	饵料藻	正常光照(h)				黑暗培养(h)			
		6	24	48	72	6	24	48	72
链状亚历山大藻	FLIg	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLTc	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLSc	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLS	N	N	N	N	N	N	N	N
东海原甲藻	FLIg	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLTc	N	N	N	N	N	Y	N	N
	FLSc	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLS	N	N	N	N	N	N	N	N
海洋原甲藻	FLIg	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLTc	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLSc	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLS	N	N	N	N	N	N	N	N
锥状斯氏藻	FLIg	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLTc	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLSc	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLS	N	N	N	N	N	N	N	N
微小原甲藻	FLIg	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLTc	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLSc	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLS	N	N	N	N	N	N	N	N
米氏凯伦藻	FLIg	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLTc	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLSc	N	N	N	N	N	N	N	N
	FLS	N	N	N	N	N	N	N	N

注: “Y”表示有观测目标甲藻的吞噬营养行为, “N”表示未观测到吞噬营养行为

3 讨论

早前,关于自养甲藻能进行吞噬营养的证据主要来自其细胞内部发现类似食物泡的结构(Stoecker *et al.*, 2006; Carvalho *et al.*, 2008)。自 2004 年以来,Jeong 等相继开展实验,发现多株自养甲藻能进行吞噬营养,且吞噬频率较高,认为吞噬营养在甲藻的营养获取中发挥重要作用(Jeong *et al.*, 2004, 2005, 2010; Kang *et al.*, 2010, 2011)。研究成果一经发表,引起全球海洋学界的关注,自养藻类的吞噬营养及混合营养机制研究成为新的研究热点(Burkholder *et al.*, 2008; Glibert *et al.*, 2009; Crane *et al.*, 2010)。对已有的少数一些甲藻的研究结果表明,不同种类的甲藻进行吞噬营养的目的各异,其中光照及营养盐胁迫可能对甲藻的吞噬营养行为产生重要影响(Skovgaard, 2000; Flöder *et al.*, 2006)。不同种类的混合营养模式也存在差异,Stoecker 等(2006)将混合营养生物划分为三类,主光合自养生物;主吞噬营养生物及光合自养与吞噬营养比重相当的理想的混合营养生物。鉴于甲藻内在的吞噬营养目的及混合营养模式不同,环境因子对不同种类的作用效果各异,或抑制,或刺激,有时甚至不起作用(Legrand *et al.*, 1998; Nishitani *et al.*, 2005),如墨西哥易碎藻(*Fragilidium mexicanum*) [20—200 $\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$]与微小原甲藻(入射光强为 6%—100%)的摄食率不会受光照强度的影响(Stoecker *et al.*, 1997; Jeong *et al.*, 1999),但 *Gymnodinium gracilentum* 和剧毒卡尔藻(*Karlodinium veneficum*)的摄食率则随着光强度的增加 [75—100 $\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$]而逐渐增加(Stoecker *et al.*, 1997)。此外,Stoecker 等(1997)认为当环境中溶解无机磷或无机氮限制,或偏离理想氮磷 = 10 : 1 时,均可刺激米氏凯伦藻的摄食,且藻类受无机磷胁迫比受无机氮胁迫更有效,人为添加氮或同时添加氮和磷,则会抑制米氏凯伦藻的摄食(Li *et al.*, 1999),而 Jeong 等(1999)发现营养盐对墨西哥易碎藻的摄食率影响不大。由此可知,环境因子对甲藻吞噬行为存在着明显的种类差异。在本研究中,通过改变目标甲藻所在环境的营养盐及光照条件,研究中国近岸海域 6 种常见赤潮甲藻对饵料藻的摄食行为。从实验结果来看,仅在个别条件下,观测到链状亚历山大藻对 FLTc 的摄食,东海原甲藻对 FLIg 的摄食,且摄食概率非常低,未观测到海洋原甲藻、微小原甲藻、锥状斯氏藻及米氏凯伦藻对任何一种 FLA 的摄食。光照及营养盐胁迫并不会导致几种目标甲藻

的吞噬行为的发生或加剧。

甲藻的吞噬营养研究被公认为在研究方法、技术手段上都存在较多的困难,研究方法本身可能存在导致吞噬结果低估的因素,如目标甲藻对饵料生物的大小、种类和活性等具有一定的选择性(Carvalho *et al.*, 2006; Jeong *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2011); 微藻色素的强自发荧光可能遮蔽 FLA 荧光(Carvalho *et al.*, 2006); 在室内长期富营养和光照充足的培养条件导致目标甲藻的吞噬营养能力的减弱,甚至丧失,等等。此外,一些目标甲藻产生的绿色自发荧光可能被错误的认定为 FLA 荧光,也不排除高估甲藻吞噬能力的可能性(Li *et al.*, 1996; Tang *et al.*, 2007)。

研究者也曾采用投喂活体饵料的方式观测东海原甲藻、米氏凯伦藻及链状亚历山大藻的吞噬行为。在实验中,观测到米氏凯伦藻对活体球等鞭金藻的摄食,但摄食概率也是非常低(张淑雯等, 2011)。2010 年春季,在东海长江口海区东海原甲藻赤潮发生现场,对东海原甲藻的吞噬营养行为开展研究,在原甲藻赤潮所在的南部海域的多个站位,观测到东海原甲藻对 FLIg 和 FLS 的摄食,但其摄食概率最高也仅为 1.4%(数据未发表)。这些研究结果与本文的研究结果是一致的。在实验过程中,将目标甲藻和饵料藻混合培养,在黑暗培养条件下,随着时间的延长,6 种目标甲藻均出现不同程度的死亡,至 72h 时,东海原甲藻和链状亚历山大藻大量死亡。但在有光的条件下,目标甲藻生理活性良好,因此可以基本排除混合培养时由于他感作用对目标甲藻死亡造成的影响。说明这些甲藻在长时间的黑暗中无法通过异养或吞噬营养获取营养维持生长,进一步支持了它们应是主光合自养种类,吞噬营养可能在某些特殊的环境条件下发挥作用。

参 考 文 献

- 孙 军, 郭术津, 2011. 甲藻的异养营养型. 生态学报, 31(20): 6270—6286
- 张清春, 于仁成, 宋静静等, 2012. 几株赤潮甲藻的摄食能力. 生态学报, 32(2): 402—413
- 张淑雯, 欧林坚, 吕颂辉等, 2011. 光照及营养盐条件对三种赤潮甲藻吞噬营养行为影响的研究. 海洋科学, 35(4): 94—99
- Burkholder J M, Glibert P M, Skelton H M, 2008. Mixotrophy, a major mode of nutrition for harmful algal species in eutrophic waters. Harmful Algae, 8: 77—93
- Callieri C, Corno G, Bertoni R, 2006. Bacterial grazing by

- mixotrophic flagellates and *Daphnia longispina*: a comparison in a fishless alpine lake. *Aquatic Microbial Ecology*, 42: 127—137
- Carvalho W F, Granéli E, 2006. Acidotropic probes and flow cytometry: a powerful combination for detecting phagotrophy in mixotrophic and heterotrophic protists. *Aquatic Microbial Ecology*, 44: 85—96
- Carvalho W F, Granéli E, 2010. Contribution of phagotrophy versus autotrophy to *Prymnesium parvum* growth under nitrogen and phosphorus sufficiency and deficiency. *Harmful Algae*, 9: 105—115
- Carvalho W F, Minnhagen S, Granéli E, 2008. *Dinophysis norvegica* (Dinophyceae), more a predator than a producer? *Harmful Algae*, 7: 174—183
- Crane K W, Grover J P, 2010. Coexistence of mixotrophs, autotrophs, and heterotrophs in planktonic microbial communities. *Journal of Theoretical Biology*, 262: 517—527
- Deuer M S, Lessard E J, 2000. Carbon to volume relationships for dinoflagellates, diatoms, and other protist plankton. *Limnology and Oceanography*, 45(3): 569—579
- Flöder S, Hansen T, Ptacnik R, 2006. Energy-dependent bacterivory in *Ochromonas minima*—A strategy promoting the use of substitutable resources and survival at insufficient light supply. *Protist*, 157: 291—302
- Glibert P M, Burkholder J M, Kana T M *et al*, 2009. Grazing by *Karenia brevis* on *Synechococcus* enhances its growth rate and may help to sustain blooms. *Aquatic Microbial Ecology*, 55: 17—30
- Hillebrand H, Duerslen D, Kirschtel U *et al*, 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*, 35: 403—424
- Jeong H J, Shim J H, Kim J S *et al*, 1999. The feeding by the thecate mixotrophic dinoflagellate *Fragilidium* cf. *mexicanum* on red tide and toxic dinoflagellate. *Mar Ecol Prog Ser*, 176: 263—277
- Jeong H J, Yoo Y D, Kang N S *et al*, 2010. Ecology of *Gymnodinium aureolum*. I. Feeding in western Korean waters. *Aquatic Microbial Ecology*, 59: 239—255
- Jeong H J, Yoo Y D, Kim J S *et al*, 2004. Mixotrophy in the phototrophic harmful alga *Cochlodinium polykrikoides* (Dinophyceae): Prey species, the effects of prey concentration, and grazing impact. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51(5): 563—569
- Jeong H J, Yoo Y D, Seong K A *et al*, 2005. Feeding by the mixotrophic red-tide dinoflagellate *Gonyaulax polygramma*: mechanisms, prey species, effects of prey concentration, and grazing impact. *Aquatic Microbial Ecology*, 38: 249—257
- Kang N S, Jeong H J, Moestrup Ø *et al*, 2010. Description of a new planktonic mixotrophic dinoflagellates *Paragymnodinium shiwhaense* n. gen., n. sp. from the coastal waters off western Korea: morphology, pigments, and ribosomal DNA gene sequence. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 57(2): 121—144
- Kang N S, Jeong H J, Yoo Y D *et al*, 2011. Mixotrophy in the newly described phototrophic dinoflagellates *Woloszynskia cincta* from western Korean Waters: Feeding mechanism, prey species and effect of prey concentration. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 58(2): 152—170
- Legrand C, Granéli E, Carlsson P, 1998. Induced phagotrophy in the photosynthetic dinoflagellate *Heterocapsa triquetra*. *Aquatic Microbial Ecology*, 15: 65—75
- Li A S, Stoecker D K, Adolf J E, 1999. Feeding, pigmentation, photosynthesis and growth of the mixotrophic dinoflagellate *Gyrodinium alatheanum*. *Aquat Microb Ecol*, 19(2): 163—176
- Li A S, Stoecker D K, Coats D W *et al*, 1996. Ingestion of fluorescently labeled and phycoerythrin-containing prey by mixotrophic dinoflagellates. *Aquatic Microbial Ecology*, 10: 139—147
- Nishitani G, Yamaguchi M, Ishikawa A *et al*, 2005. Relationships between occurrences of toxic *Dinophysis* species (Dinophyceae) and small phytoplankton in Japanese coastal waters. *Harmful Algae*, 4: 755—762
- Rublee P A, Gallegos C L, 1989. Use of fluorescently labeled algae (FLA) to estimate microzooplankton grazing. *Marine Ecology Progress Series*, 51: 221—227
- Skovgaard A, 2000. A phagotrophically derivable growth factor in the plastidic dinoflagellate *Gyrodinium resplendens* (Dinophyceae). *Journal of Phycology*, 36: 1069—1078
- Smayda T J, Reynolds C S, 2003. Strategies of marine dinoflagellate survival and some rules of assembly. *Journal of Sea Research*, 49: 95—106
- Stoecker D K, Li A, Coats D W *et al*, 1997. Mixotrophy in the dinoflagellate, *Prorocentrum minimum*. *Mar Ecol Prog Ser*, 152: 1—12
- Stoecker D K, Tillmann U, Granéli E, 2006. Phagotrophy in Harmful Algae. In: Granéli E and Turner J T, *Ecology of Harmful Algae*. Ecological Studies, 189. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Netherlands, 177—187
- Tang Y Z, Dobbs F C, 2007. Green autofluorescence in dinoflagellates, diatoms, and other microalgae and its implications for vital staining and morphological studies. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(7): 2306—2313
- Verity P G, Robertson C Y, Tronzo C R *et al*, 1992. Relationships between cell volume and the carbon and nitrogen content of marine photosynthetic nanoplankton. *Limnology and Oceanography*, 37: 1434—1446
- Zhang Q C, Yu R C, Song J J *et al*, 2011. Will harmful dinoflagellates *Karenia mikimotoi* grow phagotrophically? *Chinese Journal of Oceanography and Limnology*, 29(4): 849—859

STUDY ON PHAGOTROPHIC BEHAVIOR OF SIX HARMFUL DINOFLAGELLATES ON FLUORESCENT LABELED ALGAE

ZHANG Shu-Wen, ZHANG Yun, OU Lin-Jian, QI Yu-Zao, LÜ Song-Hui
(Research Center for Harmful Algae and Marine Biology, Jinan University, Guangzhou, 510632)

Abstract Six dinoflagellates species *Karenia mikimotoi*, *Alexandrium catenella*, *Prorocentrum donghaiense*, *Prorocentrum micans*, *Prorocentrum minimum* and *Scrippsiella trochoidea* were chosen as the target species. The preys which were labeled with 5-(4,6-Dichlorotriazinyl) aminofluorescein (DTAF) as the fluorescent labeled algae (FLA) were added to investigate whether the six dinoflagellates had the capability of phagotrophy and to analyze the influence of light and nutrients on their phagotrophic behavior. Results showed that *A. catenella* could ingest the fluorescent labeled *Thalassiosira curviseriata* and *P. donghaiense* could ingest the fluorescent labeled *Isochrysis galbana*. These two species had the capability of phagotrophy and thus belonged to the mixotrophic organisms. However, for both species, the grazing frequencies were so low and the phagotrophic behavior was not influenced by the variation of light and nutrient concentrations. No phagotrophic behavior was detected for the species of *K. mikimotoi*, *P. micans*, *P. minimum* and *S. trochoidea*. After inoculation in the dark for 48—72h, the dinoflagellates died in different extent, especially *P. minimum* and *A. catenella*. All these results support that phototrophy was the major mode in gaining nutrition and sustaining the growth for the target dinoflagellates.

Key words Dinoflagellates, Phagotrophic behavior, Fluorescent labeled algae, Mixotrophy

2011 年度《海洋与湖沼》动态

(1) 《海洋与湖沼》2011 年最新公布的总被引频次在海洋科学期刊中名列第一位; 影响因子为 1.404, 学科影响指标和综合评价总分均列海洋科学期刊首位; 综合评价总分在全国科技期刊中排第 18 位。

(2) 荣获 2011 年度百种中国杰出学术期刊奖。

(3) 荣获 2011 年度中国精品科技期刊奖。