

海洋有害藻华研究进展*

林森杰 姬南京 罗 昊

(厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室 厦门 361102)

摘要 浮游植物不仅是食物链的基础环节,也在生物地球化学循环中起着重要作用。然而,某些种类在一定条件下会过度增殖富集形成有害藻华(因造成水色变为红、绿、褐、金等颜色,所以俗称为赤潮、绿潮、褐潮、金潮等),结果严重影响当地经济、海洋生态系统、全球生物地球化学循环甚至人类健康。近年来,随着水体富营养化、全球气候变化等现象加剧,有害藻华(Harmful Algal Bloom, HAB)的暴发规模和频次呈逐年增加趋势,且相关研究已成为环境生态学领域的热点。本文主要以典型海洋 HAB 生物为线索,从物种分布、生物监测、主要影响因素、分子机制及防治等方面概述了近十年 HAB 的主要研究进展,总结了现有研究的优点和不足,并对未来 HAB 研究做了相关展望。

近十年的研究进展主要体现在:(1)不断有新的 HAB 物种被发现或鉴定, HAB 藻类系统分类也不断被更新;(2)鉴定、检测方法包括 DNA 分析、生物传感器研发应用等有较大改进;(3)藻类毒素生物合成通路的研究有一定进展;(4)在 HAB 生态学与海洋学研究持续发展的基础上,分子机制及现代组学发展较迅速。然而, HAB 发生的关键环境诱因和生物学(特别是生化与分子)机制仍然不是很清楚,缺乏一个可用来预测 HAB 暴发的关键因子。笔者认为,一方面是因为 HAB 的复杂性、种类及生态系统的特异性,另一方面是研究缺乏系统性与完整性。因此未来有必要加强对每一个重要的 HAB 原因种开展系统、持续的研究,类似于生物科学领域里的模式种研究,并且有必要开展综合性的研究,如实验室单种培养、中尺度模拟及现场生态研究相结合,整合现代组学、传统生理生态学和现场实时连续观测等技术。

关键词 浮游植物;有害藻华;分子机制

中图分类号 X55 doi: 10.11693/hyhz20180800191

海洋微型藻类(在海中营浮游生活者称为浮游植物)不仅在食物链中充当初级生产者,也在全球碳循环等生物化学地球过程中扮演着重要角色。但在一定条件下,某些种类的爆发性增殖并聚集或产毒会形成有危害的藻华。不同于正常的浮游植物春季藻华,这种“异常”的藻华严重影响着水产养殖业、旅游业、海洋生态系统,甚至危及人类健康。另外,这类藻华大多因藻细胞迅速增殖及聚集而造成水体呈红色,所以最早被统称为赤潮(red tide),而后根据水体变色不同又分为绿潮、褐潮、金潮等,而国际科学界将这些造成危害的生态现象统称为有害藻华(Harmful

Algal Bloom, HAB) (齐雨藻等, 2003)。通常情况下,根据 HAB 的特点与危害,可将它们分为三大类(Hallegraeff, 1993): (1) 无毒但间接有害的藻华,其本身不会直接对海洋生态系统或养殖业造成危害,但 HAB 生物消亡过后的残骸分解过程会大量消耗水体中的氧气,造成低氧或缺氧环境,从而引起海洋生物大量死亡; (2) 无毒但直接有害的 HAB,其本身对人无害,但会对鱼类及无脊椎动物造成直接危害,例如粘附在鱼的鳃部,导致鱼类窒息而死,从而给养殖业带来巨大损失; (3) 有毒的 HAB,其自身会产生毒素,如链状裸甲藻(*Gymnodinium catenatum*)产生的麻

*国家重点研发计划“典型致灾赤潮形成的分子机理及调控网络”项目, 2017YFC1404302 号; 国家自然科学基金重点资助项目, 41330959 号; 国家自然科学基金面上资助项目, 41776116 号。林森杰, 博士生导师, 教授, E-mail: senjie.lin@xmu.edu.cn
收稿日期: 2018-08-01, 收修改稿日期: 2018-09-14

毒性贝类毒素(PSP),这类毒素会通过食物链逐级传递,最终威胁人类健康。有些类别的藻如亚历山大藻(*Alexandrium* spp.)的藻华不会有高的细胞浓度,也不会使海水变色,但产生的毒素会对海洋动物及人构成威胁。近年来,随着水体富营养化、全球气候变化等现象加剧,由微型藻类引起的 HAB 事件也逐年增多,严重威胁海洋生态系统安全和全球生物地球化学循环,甚至危害人类健康。目前,对 HAB 的研究已成为环境生态领域的热点,且主要集中在环境因子变化及 HAB 生物本身特征分析,而这一系列研究不仅加深了我们对 HAB 形成机制的理解,也将为 HAB 的预测和防治做出贡献。

1 有害藻华的分型、种类与系统分类

如上所述,根据 HAB 生物有无毒性可将它们归纳为三类。另外,齐雨藻等(2003)根据 HAB 生物的来源或暴发地理位置不同,又将 HAB 分为四类:(1)河口、近岸、内湾型,这类 HAB 生物种类较多,存在地区差异性,且 HAB 的发生大多由水体富营养化导致;(2)外海(或外洋)型 HAB,它们大多发生于水团交汇处或上升流区域;(3)外来型 HAB,这类藻华一般由于外力如海流、船舶压舱水等作用被带到藻华形成地,通常持续时间较短;(4)养殖区型 HAB,这种类型藻华主要由于养殖区域饵料残留或生物代谢物导致水体富营养化,从而形成 HAB,由此可见 HAB 的分布范围极为广泛。此外,形成 HAB 的原因种也很多,据不完全统计,世界范围内已报道的 HAB 生物高达 300 多种,其中硅藻门、甲藻门和蓝藻门生物比例较高。联合国教科文组织政府间海洋学委员会(IOC-UNESCO) (<http://www.marinespecies.org/hab>)统计结果表明,HAB 生物中能产生毒素或者有毒素效应的物种就多达 173 种,其中硅藻为 28 种,可以产生记忆性丧失贝毒的拟菱形藻(*Pseudo-nitzschia* spp.)共计 26 种;甲藻为 94 种,可产生多种类型毒素,如神经性贝类毒素、腹泻性贝类毒素、记忆缺失性贝类毒素、西加鱼毒素、原多甲藻类毒素以及一些未被鉴定的毒素。此外,在 IOC-UNESCO 统计的 173 个物种之外,还有大量的赤潮生物在暴发时因生物量大、产生粘液等因素严重影响海洋生态系统,如中国沿海常见的东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)和中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)等。值得注意的是,有些甲藻没有叶绿体不能进行光合作用,是异养型生物,但也可能形成 HAB,如会产毒的原多甲藻

(*Protoperdinium* spp.),还有的异养型甲藻或其它原生生物含有共生藻,也具有形成 HAB 的能力因而成为赤潮“藻”,而其共生藻在自由生活时却未形成过 HAB,表明共生宿主可能为共生藻提供较丰富的营养盐或生长繁殖条件。如绿色的异养型甲藻夜光藻,其颜色来自共生的(*Protoeuglena noctilucae*) (Wang *et al.*, 2016c);红色的原生生物中溢虫(*Mesodinium rubrum*),其颜色来自共生的隐藻(*Teleaulax amphioxeia*) (Dierssen *et al.*, 2015)。另外,虽然 HAB 原因种主要是单胞藻,但大型海藻也会形成 HAB,如典型绿藻中的浒苔(*Ulva prolifera*)会形成绿潮(Hu *et al.*, 2010),而马尾藻(*Sargassum horneri*)形成的藻华从空中看像是木屑,常被称为“金潮”(Amaral-Zettler *et al.*, 2017; Qi *et al.*, 2017)。过去十年,不断有新的 HAB 种类被发现,如微小异弯藻(*Heterosigma minor*) (Engesmo *et al.*, 2016)、拟菱形藻(*Pseudo-nitzschia simulans*) (Li *et al.*, 2017)、凯匹林纳原甲藻(*Prorocentrum caipirignum*) (Nascimento *et al.*, 2017)等,其中不少种类也逐渐在中国沿海出现(Lu *et al.*, 2014)。系统分类也在不断的变化或改进,比如原来的裸甲藻(*Gymnodinium*)属已被重新划分为多个属,包括凯伦藻属(*Karenia*)、卡罗藻属(*Karlodinium*)、塔卡娅玛藻属(*Takayama*)及严格的裸甲藻属等。亚历山大藻属的塔玛(*A. tamarense*)、链状(*A. catenella*)、芬迪(*A. fundyense*)三个种的形态极其相似造成分类上十分混乱,近年经过 DNA 条形码及系统发育研究,发现包含五个种,并对种名进行梳理与修改(Lilly *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2014; John *et al.*, 2017)。在广东近海常形成 HAB 的双胞旋沟藻(*Cochlodinium geminatum*)经过壳顶沟纹及分子进化分析被重新界定为双胞多沟藻(*Polykrikos geminatum*) (Qiu *et al.*, 2013)。

2 有害藻华的鉴定和监测

鉴于 HAB 的危害和多样性,建立其准确、快速的检测方法对 HAB 的应急响应非常重要。传统的藻类鉴定主要是依靠形态特征,但这一方法往往耗时耗力,需要长期积累的分类经验,并且难以满足大量样品的检测需求。同时,一些 HAB 物种用普通光学显微镜只能鉴定到属,如拟菱形藻、骨条藻、亚历山大藻,它们属内种间形态差异很小,因此常需要电子显微镜进行进一步观察,但电镜样品制备过程又相当繁琐。除此之外,传统的浮游植物样品保存方法并不适用于所有的 HAB 生物,比如赤潮异弯藻

(*Heterosigma akashiwo*) 在多聚甲醛和鲁哥氏固定液中极易破碎, 且细胞形态多变。因此, 近年来一些高效的 HAB 鉴定与监测方法陆续被开发, 诸如个体水平的物种分子鉴定、现场实时连续显微观测(如 Flowcam, Imaging FlowCytobot 即 IFCB 等)、中尺度的船舶走航监测及大尺度的 HAB 卫星遥感观测等。其中, 现场实时连续显微观测手段主要是捕获细胞图像供之后进行物种鉴定, 智能化自动物种识别还在研究中。

HAB 生物分子鉴定主要始于 20 世纪 90 年代, 近十年发展迅速、应用广泛, 目前基于分子方法已发现了许多隐藏种或新种, 如多种拟菱形藻的发现(Teng *et al*, 2015; Ajani *et al*, 2018)及塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarense*)复合种的重新划分(Wang *et al*, 2014)。另外, DNA 条形码概念的引入也使得包括 HAB 生物在内的海洋生物分子鉴定方法更标准化(林森杰等, 2014)。分子方法用于 HAB 生物检测(定量)主要包括两个步骤: (1) 选择合适的分子标记, 如设计不同分类水平的特异性引物或探针; (2) 开发易于操作、高灵敏度的信号检测方法。在分子标记选择方面, 由于核糖体 RNA (rRNA) 基因 rDNA 同时含有保守区和变异区, 且在细胞内存在高拷贝, 所以该分子标记成为诸多研究的首选。另外, 根据研究需要, 还可以选择代谢通路中的关键基因或蛋白作为分子标记。在众多方法中, 基于核酸水平的荧光原位杂交技术(fluorescent in situ hybridization, FISH) (Anderson *et al*, 2005; Chen *et al*, 2013)、三明治杂交技术(sandwich hybridization assay, SHA) (Doll *et al*, 2014)、核酸酶保护三明治杂交(Cai *et al*, 2006; Zhen *et al*, 2008)、定量 PCR (Coyne *et al*, 2005; Lin *et al*, 2006)、肽核酸探针(侯建军等, 2005)等, 以及基于蛋白水平的免疫荧光探针技术(Lin, 2008)、酶联免疫吸附分析技术(Xin *et al*, 2005; Litaker *et al*, 2008)等均较早的被应用到 HAB 生物或毒素的监测, 且取得较显著成果。近两年来, 高灵敏度的环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)和超支化滚环扩增技术(hyperbranched rolling circle amplification, HRCA) 逐渐受到研究者的青睐。如 Huang 等(2017a, b)综合利用 LAMP 和横向流动试纸(LFD)方法成功地对剧毒卡罗藻(*Karlodinium veneticum*)和中肋骨条藻进行检测, 该方法与传统 PCR 检测相比, 检测灵敏度高出 10—100 倍, 且操作简单、检测结果直观; Zhang 等(2018a)分别利用 LAMP 和 HRCA 对赤潮异弯藻进行比较检测分析, 其研究结果表明两种方法均优于传

统 PCR, 且反应结束后直接添加核酸荧光染料 SYBR Green I 即可达到检测结果可视化。同样, 研究者为了实现产毒 HAB 生物的特异性检测, 通过添加毒素代谢通路中关键基因或者蛋白作为分子标记, 以达到同步检测生物丰度和毒素水平的目的, 如 Brient 等(2017)针对蓝藻同时设计 16S rRNA 和微囊藻素合成酶两个探针, 利用酪酰胺信号放大技术-FISH 方法, 同时实现对蓝藻 16S rRNA (*Microcystis*) (淡水藻)和微囊藻素合成酶 mRNA 表达丰度的检测, 以期估算水体中微囊藻素浓度。除此之外, 高通量测序技术也逐渐被应用到 HAB 形成过程的生物多样性比较分析(Ji *et al*, 2018)。

藻华的中尺度监测主要分为浮标现场监测、船载快速监测及航拍监测等。自动监测浮标可以在恶劣的条件下实现全天候定点监测, 提供实时、连续的观测数据, 该方法的缺点是机动性较差、设备易受人为破坏等; 船载快速监测是使用船航进行现场取样, 然后利用船载设备直接对样品进行监测分析, 该监测方法所获得的数据相对准确全面, 能够真实评估海区现场状况, 缺点则是航次成本高昂, 采样易受极端天气和海况等因素影响。

相对于原位采样监测, HAB 遥感观测技术具有同步、大面积检测等特点, 也是目前世界各地积极发展的监测技术。该方法一方面是根据总叶绿素浓度判断水体中藻类浓度, 不具有判断 HAB 原因种的能力; 另一方面, 也是较新的方法, 是根据 HAB 水体的光谱特征变化, 对比疑似原因种的细胞色素特征及相应的吸收光谱波段, 对特定 HAB 生物的丰度进行监测。目前基于总叶绿素的方法应用较广, 如 Tomlinson 等(2004)利用 SeaWiFs 卫星资料根据总叶绿素水平探测佛罗里达州短凯伦藻(*Karenia brevis*)藻华的时空分布。类似方法也曾应用在亚洲 HAB 研究, 如 Tang 等(2004)对越南东南部 HAB 的研究、Ahn 等(2006)对韩国水域 HAB 的研究。利用光谱特征直接探测 HAB 原因种丰度的挑战性大, 发展较晚较慢, 目前较成功例子包括对中国海域的东海原甲藻及其他藻的研究(Hu *et al*, 2010; Shang *et al*, 2014; Tao *et al*, 2017)。Qi 等(2017)综合使用卫星遥感技术、数学模型以及 HAB 生物光谱特征对东海大规模暴发的马尾藻进行成因分析; 2015 年研究者首次利用中缢虫的特殊藻红蛋白色素光谱特征, 对其在美国长岛湾形成的 HAB 进行了监测(Dierssen *et al*, 2015)。

为提高 HAB 监测的灵敏度和实效性, 多学科交叉观测已成为研究热点, 如 Scholin 等(2009)设计的环境样品处理器, 整合了 SHA、酶联免疫吸附测定、数据捕

获及远程传输等技术, 实现赤潮生物亚历山大藻、拟菱形藻及软骨藻酸(domoiic acid)的实时自动监测; 同样, 船载监测的结果也可为卫星遥感监测提供验证和补充。

3 有害藻华的主要影响因素

在开放海域环境, 生物多样性指数较高, 不同生物如浮游植物、浮游动物和海洋细菌等共同生活, 它们共享有限的生物资源, 彼此之间相互协作、竞争、制约, 构成普遍存在的生物群落结构, 因此 HAB 生物在群落中所占的比例往往不大。但当一种或多种环境因子接近某种生物最适生长条件时, 该物种会爆发性增殖而形成藻华。下文将从生物、化学和物理三个方面总结影响藻华因素的研究现状。

3.1 生物因素

HAB 生物本身是导致藻华的内因, 其营养获取方式、迁移行为及与其他生物的关系决定了它们的增殖过程。Jeong 等(2015)根据 HAB 生物的生态策略不同, 将它们分为四个不同层次: (1) 利用光合系统获取能量; (2) 拥有昼夜迁移行为; (3) 混合营养型; (4) 利用化感效应抑制其他生物生长。因此, 在同等条件下, 层次较高的 HAB 生物拥有更多的生存策略, 更易于形成 HABs。

浮游植物作为食物链的初级生产者, 最重要的营养方式是光合自养, 利用捕获太阳能及摄取无机化合物(营养盐, 详述见下一部分)合成有机碳供生长所需。这种营养方式主要通过光合作用系统(叶绿体或类似装置)实现, 但近年研究发现, 有些浮游植物尤其是甲藻, 还具备质子泵型的视紫红质, 通过和视黄醛结合可以直接把太阳能转化为腺苷三磷酸(Adenosine triphosphate, ATP)促进藻类生长, 这种现象可能有利于这些藻(如东海原甲藻)获得生态竞争优势, 从而形成藻华(Shi *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2019b)。

浮游植物的昼夜垂直迁移行为是指部分鞭毛藻类在光周期阶段上浮至水体表面, 暗周期阶段下沉至下层水体的现象。因此, 具有昼夜迁移行为的鞭毛藻类可以在水体中选择最适宜生长的水层。Shikata 等(2015)等模拟实验表明, 细胞的昼夜垂直迁移行为明显受光周期调控, 而非生物钟调控。另外, 具有垂直迁移行为的 HAB 生物不仅在光能利用方面有一定的竞争优势, 而且在一定程度上避免了被浮游动物捕食, 并能从营养盐丰富的下层水体中获得更多的营养盐。

混合营养型浮游生物是指一类既能利用光合作用合成能量, 又能通过摄食细菌和其它微生物来获取食物的生物。在藻华形成时, 水环境中营养盐浓度处于

较低水平时, 混合营养型藻种会通过摄食其他生物(包括细菌和其他藻)来补充营养。在韩国的 Masan 湾, Jeong 等(2013)研究表明, 一些 HAB 生物的丰度与环境中细菌和其他藻的丰度显著正相关, 因此作者提出, 在营养限制条件下混合营养型摄食方式有利于这类生物形成藻华。另外, 混合营养型 HAB 生物可以通过摄食作用, 控制被摄食 HAB 生物的生长, 最终可能形成多种生物连续性藻华(Jeong *et al.*, 2004, 2005)。

浮游植物的生物量还受到捕食者(如浮游动物)的控制, 诸多研究表明当 HAB 生物的生长速率大于被摄食速率时, 就能形成藻华(Wells *et al.*, 2015)。根据捕食者的大小特征, 可将它们分为五大类: 病原微生物、微型浮游动物、桡足类和其他中型浮游动物、底栖无脊椎动物、鱼类(Wells *et al.*, 2015)。其中微型浮游动物的直径小于 200 微米, 包括异养型甲藻和纤毛虫, 它们一般能消耗 60%—70%的浮游植物初级生产力, 对 HAB 的调控起最重要作用(Turner, 2006)。同样, 许多桡足类、无脊椎动物和鱼类也会摄食多种 HAB 生物, 而部分 HAB 生物则通过产生毒素抵御这些捕食者(Wells *et al.*, 2015)。

浮游植物生物量不仅受到浮游动物的下行(top-down)调控, 还受到微生物的平行(lateral)控制。微生物杀藻主要指溶藻细菌通过竞争营养盐或释放生物活性物质来抑制甚至杀死 HAB 生物。赵以军等(1996)的研究表明, 细菌在维持藻类的生物量平衡过程中起着十分重要的作用。有些细菌能与藻类竞争碳、氮、磷等基础元素, 导致相关水域营养盐限制, 从而抑制 HAB 生物的生长(Doucette, 1995), 有些细菌具有杀藻能力因此称杀藻菌(Algicidal bacteria)(Meyer *et al.*, 2017)。例如 Mitsutani 等(2001)发现一株海洋细菌交替假单胞菌(*Pseudoalteromonas* A25)产生的蛋白酶可以杀死骨条藻, 噬胞菌(*Cytophaga* spp.)菌株 A5Y 的培养物能明显抑制中肋骨条藻的生长; Roth 等(2008)发现 CFB (*Cytophaga/Flavobacterium/Bacteroidetes*)细菌能杀短凯伦藻; Wang 等(2012)发现弧菌(*Vibrio*)和假单胞菌也能通过分泌胞外蛋白杀死塔玛亚历山大藻。除此之外, 海洋病毒尤其是藻类病毒在藻华控制方面也起着重要作用(Suttle, 2007), 而赤潮藻对微生物侵染的防御能力很可能赋予自己的竞争优势, 而有利于赤潮形成(Zhang *et al.*, 2019b)。

化感作用是指初级生产者之间或者初级生产者与微生物间, 通过释放一种或者多种化合物(化感物)而产生生化上的相互作用, 进而影响其附近环境中

竞争生物的生长、生存和繁殖的生物学现象。在水生生态系统中主要存在两种不同的化感作用: (1) 邻近或直接接触的两种水生生物间的化感作用, 如底栖甲藻与大型藻类之间的化感作用 (Accoroni *et al.*, 2015); (2) 作为初级生产者的浮游植物能产生并释放化感物质进入周围水环境中, 有益于它们在与其它种群生物的竞争中获得优势 (Turner, 2006)。藻类的化感作用是 HAB 的显著特征之一。在海水中, 营养要素含量低是浮游植物生长的主要限制因子, 不同种群为获得有限的营养而相互竞争, HAB 生物能通过释放化感物质, 如毒素, 来抑制甚至杀死周围的竞争生物, 从而保证自身的生长优势 (Turner, 2006), 如拟菱形藻 (*Pseudo-nitzschia delicatissima*) 产生的软骨藻酸能抑制马氏骨条藻 (*Skeletonema marinoi*) 的生长 (Prince *et al.*, 2013); 赤潮异弯藻在指数生长末期可以显著抑制骨条藻的生长 (Matsuyama *et al.*, 2000); 常见 HAB 生物亚历山大藻和短凯伦藻也能分泌化感物质抑制其他竞争藻类的生长 (Arzul *et al.*, 1999; Prince *et al.*, 2010)。值得注意的是, 最近有报道显示拟菱形藻 (*Pseudo-nitzschia multiseriata*) 通过释放色胺酸刺激细菌 *Sulfitobacter* sp. SA11 生长并合成、释放吡啶-3-乙酸而促进硅藻自己的生长繁殖 (Amin *et al.*, 2015), 是个集化感、藻菌互作、生物信号与一身的典型个案。

3.2 化学因素

3.2.1 主要营养盐 营养盐如氮、磷等是所有生命形式赖以生存的基本元素, 是浮游植物的主要上行 (bottom-up) 调控因子。在寡营养盐海域, 浮游生物的生长往往受到限制。近年来, 水体富营养化一直被认为是引起 HAB 的主因。Heisler 等 (2008) 全面综述了水体富营养化与 HAB 的关系, 阐述了不同营养盐来源、不同营养比例等与 HAB 的关系; Anderson 等 (2002) 提出, 相似的营养盐, 在不同的环境或不同时间点输入均可导致不同的结果, 因此不能简单地将所有的 HAB 都归因于水体富营养化。

磷不仅是细胞膜骨架和遗传物质核酸的重要组成部分, 也是细胞信号转导和应激反应的关键元素。在海洋中磷源分为可溶性无机磷 (DIP) 和可溶性有机磷 (DOP), 其中 DIP 可被浮游植物直接利用。研究表明诸多 HAB 生物, 如赤潮异弯藻和塔玛亚历山大藻均能利用多种形式的 DOP (Wang *et al.*, 2011), 因此在无机磷匮乏的海域, 对有机磷的利用赋予部分 HAB 生物一定竞争优势, 这对 HAB 的形成和维持具有重要意义 (Lin *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2019b)。在自然海域, 有机磷主要

以磷酸酯形式存在 (Young *et al.*, 2010), 而 HAB 生物主要通过磷酸酯酶, 如碱性磷酸酶 (AP)、磷酸二酯酶和核苷酸酶等, 从环境中获取磷。AP 作为重要的有机磷水解酶, 主要在细胞膜表面或细胞内水解单磷酸酯类, 并被广泛用作磷源胁迫指示剂 (Lin *et al.*, 2016)。研究显示如强壮前沟藻 (*Amphidinium carterae*) 和短凯伦藻等甲藻的 AP 在磷限制条件下高表达, 通过水解一定形式的有机磷来获取磷源 (Lin *et al.*, 2011, 2012)。对米氏凯伦藻 (*Karenia mikimotoi*) 的研究表明在磷源短缺的条件下 AP 活性虽然增加, 但是米氏凯伦藻并不通过 AP 来利用葡萄糖-6-磷酸和三磷酸腺苷等有机磷 (Luo *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2017), 提示仅以 AP 活性测定判断赤潮藻是否利用有机磷有可能得出错误结论。Luo 等 (2017) 研究表明米氏凯伦藻可以利用一种胞外分泌的核苷酸酶水解三磷酸腺苷上的多个磷酸基团。对一种蓝藻 (*Prochlorococcus* MED4) 的研究也显示该物种很可能利用核苷酸酶来水解三磷酸腺苷 (Krumhardt *et al.*, 2013)。由于三磷酸腺苷在海洋中普遍存在, 因此其水解产生的大量无机磷可能是海洋生态系统中磷的重要来源。除此之外, HAB 生物还通过上调磷转运蛋白表达、合成磷脂代替磷脂等途径来缓解或应对磷源限制 (Lin *et al.*, 2016)。另外, 在合成磷脂代替磷脂方面, 不同藻类可能采取不同的策略, 如研究发现蓝藻和部分真核藻在磷限制条件下上调磷脂合成、下调磷脂合成途径 (Van Mooy *et al.*, 2006), 然而东海原甲藻则是通过下调磷脂降解途径以达到增加磷脂的效果 (Shi *et al.*, 2017a)。除了以 C-O-P 化学键为特征的磷脂 (约占海表总有机磷的 75%), 水环境里还有另一类以 C-P 化学键为特征的磷 (Phosphonate, 约占海表总有机磷的 25%)。C-P 键较 C-O-P 键稳定, 之前的研究表明只有细菌能分解它, 但近年来研究发现在无机磷匮乏条件下, 有些蓝藻可以分解利用它 (Dyhrman *et al.*, 2006; Teikari *et al.*, 2018), 且细菌与蓝藻均可利用 C-P 水解酶通路或 C-P 裂解酶通路分解磷 (Quinn *et al.*, 2007; McGrath *et al.*, 2013), 其中最为常见的水解酶通路是 PhnW-PhnX 通路。最近一项研究表明东海原甲藻、太平洋亚历山大藻 (*Alexandrium pacificum*)、剧毒卡罗藻等 HAB 甲藻虽然拥有 PhnW 及 PhnX 基因却不能直接利用有机磷 2-氨基乙基膦酸 (Cui *et al.*, 2016); 另一项研究显示, 包括甲藻在内的不同种类浮游植物对除草剂草甘膦的响应不同, 有的可以利用它作为磷源, 有的生长会被抑制, 有的则没有反应, 其中东海原甲藻的共存细菌可以分解草甘膦, 为藻的生长提供磷源 (Wang *et al.*, 2016a, 2017)。这些结果表明

在无机磷匮乏的环境中,有机磷的存在可能有选择性的促进某些 HABs 的形成。

氮是构成蛋白质、核酸、叶绿素等生物大分子的必要成分,但在全球多个海域氮浓度相对偏低,是制约初级生产力的主要因素(Gruber *et al.*, 2008)。在氮限制情况下,浮游植物常出现生长停滞、色素组成改变、光合效率降低等生理应急反应(Latasa *et al.*, 1994)。因此,应对氮胁迫的能力对于浮游植物在海洋中的快速增殖甚至暴发至关重要。HAB 生物如米氏凯伦藻、东海原甲藻和赤潮异弯藻不仅可以广泛地利用硝氮、氨氮和尿素维持自身增殖,还可以在氮限制条件下通过上调硝酸盐、铵盐及尿素转运蛋白等基因的表达,最大程度的利用环境中各种氮源。Jing 等(2017)研究发现东海原甲藻在利用尿素时细胞中的碳氮比值显著低于利用硝氮时的比值,表明该物种在尿素作为唯一氮源情况下可以吸收并储存更多的氮;Zhuang 等(2015)通过宏转录组研究表明亚历山大藻藻华时除了可以利用几种常见的氮源,还可能利用氰化物等氮源。另外,氮限制条件下氨基酸分解代谢和转运相关基因会上调表达,表明藻细胞还可以通过加快机体内有机氮的循环利用以克服氮不足。

3.2.2 维生素 维生素是构成多种酶活性中心和次级代谢产物的重要辅酶因子,但大部分真核浮游植物属于维生素 B 缺陷型,没有自身合成维生素 B 的生物途径,只能从外界获取。例如, Tang 等(2010)研究发现,在调查的 45 个甲藻 HAB 生物中,91%是维生素 B₁₂ 缺陷型,49%是维生素 B₁ 缺陷型。维生素 B₁₂ 是氨基酸和脱氧核糖合成以及很多生物化学通路中单碳的还原、转移所必须的。维生素 B₁ 在碳代谢中起重要作用,也是多种碳水化合物初级代谢相关酶和氨基酸代谢相关酶的辅酶因子(Tang *et al.*, 2010)。研究显示多个 HAB 生物的维生素 B₁ 和 B₁₂ 的半饱和常数均接近于河口的维生素浓度,这表明部分 HAB 生物需要充足的维生素来维持细胞生长和形成藻华。很多海域现场调查也认为维生素含量与藻华的形成有重要的关联,Carlucci (1970)发现在加利福尼亚州近海多边舌甲藻(*Lingulodinium polyedrum*)藻华后,海水中的维生素 B₁₂ 几乎被消耗殆尽;在日本发生裸甲藻藻华和海洋原甲藻藻华的过程中,适量的添加维生素 B₁₂ 和维生素 B₁ 可以显著提高二者的生长速率(Takahashi *et al.*, 1982)。

3.2.3 微量元素 铁元素和其他微量元素在 HAB 过程中也起到非常重要的作用(Sunda, 2006)。例如, Tian 等(2018)统计分析了 2005—2013 年中国东海

HABs 和气溶胶事件(Aerosol events)发生的频次,结果发现两个事件之间显著相关,基于大气颗粒物组分分析和实验室模式实验,作者提出气溶胶中的磷酸盐和铁对 HAB 的形成有促进作用;Rue 等(2001)研究发现,在铁限制条件下,拟菱形藻的软骨藻酸可能有增强铁、铜吸收的作用,因而铁限制可能会提高该物种毒素的合成。另外,研究发现抑食金球藻(*Aureococcus anophagefferens*)的基因组含有特别高拷贝数的微量金属转运蛋白基因,学者认为这种特征可能是这个种类占有生态优势的原因之一(Gobler *et al.*, 2011)。尽管如此,有关微量元素对 HAB 形成的研究相对较少,有待今后加强。

3.3 物理因子

3.3.1 光照 植物通过光合作用将光能转化为化学能,且在一定的光强范围内,光合效率随着光照强度的增加而增加,但当光强达到或者超过某一临界点,即光饱和点时,植物的光合作用不再增强,且会出现光抑制现象。相对于陆生植物,海洋浮游植物所处的水环境更为复杂,如在悬浮物质浓度较高的河口,浮游植物光合作用常受到限制,而在广阔的大洋则会出现光抑制现象。除此之外,不同种或者类群浮游植物的最适生长光照均有差异,如光照可以显著影响不同 HAB 生物的生长和演替(王爱军等, 2008)。

3.3.2 温度和二氧化碳 温度是影响浮游植物细胞新陈代谢、孢子萌发、营养摄取和光合作用等生理过程的主要环境因子之一,其在藻华形成过程中扮演着重要角色。联合国政府间气候变化专门委员会(IPCC)预测在 21 世纪末期全球气温会升高 1.1—6.4°C。通常情况下,浮游生物的生长率会随着温度升高而增加,因此全球变暖将有助于多数物种藻华的形成。除此之外,温度升高不利于水体垂直混合,进而增强了具有迁移行为藻类的竞争优势,同样温度升高也使得一些 HAB 生物的分布范围更多。迄今为止,已有多篇综述概括了全球气候变化对 HAB 的影响,且大部分 HAB 生物的暴发频率和规模在未来将继续加剧(Paerl *et al.*, 2009; Wells *et al.*, 2015)。Gobler 等(2017)结合 34 年(1982—2016)的海表面温度变化趋势和温度对亚历山大藻和渐尖鳍藻(*Dinophysis acuminata*)生长影响的数据进行联合分析,结果表明在北纬 40°—60°之间,这两种藻在大西洋多个海域的平均生长率和暴发周期均有所增加,且暴发范围也在扩张。针对中国东海的 HAB 现象, Xiao 等(2018)基于连续 14 年的观测数据和数学模型,对

硅藻和甲藻的藻华的成因进行分析, 结果表明低温和高营养盐水平有利于硅藻藻华形成, 而低磷酸盐和高氮磷比更有利于甲藻藻华形成, 基于温度变化和营养盐输入趋势, 作者预测 2100 年 60% 观测站位的硅藻生物量会降低 19%, 70% 观测站位的甲藻生物量会升高 60%。此外, 未来全球性气候变暖还可能改变相同类群内生物之间的竞争形势, 因为温度升高会有利于耐高温的 HAB 生物生长。

二氧化碳(CO₂)作为光合作用的原料, 在一定范围内其浓度越高, 光合作用就越强, 浮游植物的初级生产力就越高。在光合固碳过程中, 参与 CO₂ 固定的 1, 5-二磷酸核酮糖羧化/加氧酶对氧具有较高的亲和力, 为了克服 CO₂ 可利用性限制, 多数浮游植物在进化过程中获得了 CO₂ 浓缩机制(CCM), 因此浮游植物的生长是否受无机碳限制还存在诸多争议。自工业革命以来, 化石燃料的大量使用, 加剧了 CO₂ 的排放。Fu 等(2008)研究表明 CO₂ 浓度升高会促进原甲藻的碳固定, 且温度升高和 CO₂ 浓度升高均能刺激赤潮异弯藻的生长。Van de Waal 等(2014)实验室模拟数据说明升高 CO₂ 浓度会降低塔马亚历山大藻细胞内 PSP 含量, 但对于红色赤潮藻(*Akashiwo sanguinea*),

在海洋酸化、升温和高光照同时作用下, 细胞的生长率和溶血活性均明显增加(Ou *et al*, 2017)。为了更全面的剖析气候变化对藻华的影响, Glibert 等(2014)结合气候模型和海洋学-生物地球化学模型对原甲藻属和凯伦藻属的变化趋势进行分析, 结果表明在波罗地海和亚洲东北部海域这两类生物的藻华周期和范围呈现扩大趋势, 而在亚洲东南海域原甲藻属的藻华范围和凯伦藻的藻华周期都不会变化。

综上所述, 环境因子变化对 HAB 的影响存在物种特异性、区域差异性特征。因此在后续研究中, 要做到有物种、区域针对性。与此同时, 后续的研究中不仅要开展实验室模式研究, 还要进行实际观测和全面模拟分析。

4 藻华形成的分子机制研究现状

近年来, 从分子水平上阐述 HAB 形成机制逐渐成为研究热点, 同时取得一些突破性成果。研究手段也逐渐从单基因到整个转录水平、从转录水平到蛋白水平或代谢水平进步, 同样研究范围也不再局限于实验室模拟实验, 更多的转向 HAB 现场样品研究。在此, 笔者将对 HAB 生物转录组、宏转录组、蛋白组和代谢组等方面取得的部分研究成果进行概述(表 1)。

表 1 典型 HAB 生物的基因组、转录组、蛋白组文库构建概况
Tab. 1 Summary of genomic, transcriptomic and proteomic studies in HAB species

HAB 生物	GE	TR	PR	文献
链状亚历山大藻		+		Uribe <i>et al</i> , 2008
芬迪亚历山大藻		+		Erdner <i>et al</i> , 2006; Zhuang <i>et al</i> , 2015
微小亚历山大藻		+		Yang <i>et al</i> , 2011; Harke <i>et al</i> , 2017
项圈亚历山大藻		+		Harke <i>et al</i> , 2017
乌氏亚历山大藻	+	+		Jaekisch <i>et al</i> , 2011
塔玛亚历山大藻		+		Moustafa <i>et al</i> , 2010
强壮前沟藻		+		Bachvaroff <i>et al</i> , 2008
抑食金球藻	+	+	+	Gobler <i>et al</i> , 2011; Wurch <i>et al</i> , 2011a, b
多环旋沟藻		+		Guo <i>et al</i> , 2016
渐尖鳍藻		+		Wisecaver <i>et al</i> , 2010
异帽藻		+		Zhang <i>et al</i> , 2008
赤潮异弯藻		+		Haley <i>et al</i> , 2017; Ji <i>et al</i> , 2018
剧毒卡罗藻		+		Bachvaroff <i>et al</i> , 2009
短凯伦藻		+	+	Morey <i>et al</i> , 2011; Poulson-Ellestad <i>et al</i> , 2014
米氏凯伦藻		+	+	Lei <i>et al</i> , 2011; Luo <i>et al</i> , 2017; Zhang <i>et al</i> , 2017
多边舌甲藻		+		Wang <i>et al</i> , 2006
东海原甲藻		+		Shi <i>et al</i> , 2017a
微小原甲藻		+		Cooper <i>et al</i> , 2014
小定鞭藻		+		Liu <i>et al</i> , 2015
多列拟菱形藻	+	+		McLean, 2013; Bender <i>et al</i> , 2014
锥状斯氏藻		+		Cooper <i>et al</i> , 2016
中肋骨条藻		+	+	Zhang <i>et al</i> , 2015, 2016

注: GE: 基因组; TR: 转录组; PR: 蛋白组; +代表利用对应方法进行研究

传统的 HAB 分子生态学研究, 主要参考酵母、拟南芥等模式生物的研究成果, 有目的地去选择重要基因, 对它们在不同环境条件下的调控规律进行分析, 如为了通过探测浮游植物生长率(细胞分裂速率)来了解赤潮的孕育及生长趋势, Lin 等(1994)利用商品化的增殖细胞核抗原(PCNA)抗体, 分析了 PCNA 蛋白在 4 种海洋浮游植物中的表达模式, 其结果显示 PCNA 蛋白在细胞快速增殖时高度表达, 表明根据该蛋白的表达量可以评估 HAB 生物的生长率。在这之后, 基于 HAB 生物 PCNA 及其他细胞周期蛋白等相关分子标记的研究工作相继展开(Zhang *et al.*, 2006; Zhuang *et al.*, 2013; Shi *et al.*, 2017b)。更多分子水平的研究集中在藻类营养盐吸收代谢过程对环境营养盐多寡变动的响应, 比如 Lin 等(2012)对短凯伦藻的 AP 进行克隆表达分析, 结果表明在磷限制条件下, AP 基因的转录水平显著升高, 而这种调控模式有利于该物种在无机磷限制条件下利用环境中较为丰富的有机磷; Wang 等(2018)在盐生卡盾藻(*Chattonella subsalsa*)中鉴定到一个新型硝酸还原酶(NR), 且该基因在不同环境条件下的表达模式与其他 NR 不同, 表明该物种可以利用不同类型的 NR 进行硝酸盐同化。近年来, 随着高通量测序通量的提高、成本的降低, 该技术已广泛应用到 HAB 形成机制的研究中(表 1), 仅 2014 年海洋真核微生物转录组项目(MMETSP)就公布了近 680 个转录组数据, 其中包含大量的 HAB 生物(Keeling *et al.*, 2014)。例如, 针对赤潮异弯藻 4 个不同株系就设计了 14 个处理组, 涵盖不同营养盐、不同盐度等培养条件。近两年来, 基于 MMETSP 数据的分析结果也陆续见刊, 如 Haley 等(2017)分析了赤潮异弯藻在氮限制、磷限制条件下分子调控机制, 结果表明在营养限制条件下, 该物种的三分之一转录本被显著调控; Harke 等(2017)比较分析了 5 种 HAB 生物(甲藻、硅藻和定鞭藻)在氮、磷营养限制条件下的转录组水平调控差异, 结果表明在营养盐限制条件下, 甲藻的转录水平调控不明显, 而硅藻和定鞭藻两个类群对氮、磷限制响应较为一致, 比如铵盐、硝酸盐和氨基酸转运蛋白在氮限制条件下、有机磷和无机磷代谢相关基因在磷限制条件下的表达水平均显著上调。除此之外, Liu 等(2015)还利用高通量测序技术比较分析了混合营养型的小定鞭藻(*Prymnesium parvum*)在有无食物情况下的基因差异表达。

近五年来, 得益于高通量测序技术的快速发展,

小 RNA 测序、蛋白组和代谢组等现代分析方法也逐渐被应用到 HAB 生物研究(表 1)。Zhang 等(2015)利用鸟枪法蛋白组测序技术对中肋骨条藻的实验室培养样品和藻华形成时的环境样品进行分析, 结果表明在不同环境条件下, 该物种有针对性的调节特定代谢通路基因的表达, 阐述了中肋骨条藻对环境变化有很强的适应机制, 为后续研究该物种的藻华形成机制打下基础; Shi 等(2017a)利用转录组和小 RNA 联合分析方法对东海原甲藻在磷限制条件下的适应机制进行了分析, 结果表明该物种通过提高有机磷利用、加速 ATP 循环以及抑制硫脂降解等途径应对磷限制; Zhang 等(2019a)利用基因沉默法抑制了东海原甲藻和剧毒卡罗藻的质子泵视紫红质基因的表达, 发现这两种藻生长率均下降, 初步证实质子泵视紫红质可促进藻类生长且可能有助于赤潮的形成。Poulson-Ellestad 等(2014)首次综合利用代谢组和蛋白组技术分析短凯伦藻对伪矮海链藻(*Thalassiosira pseudonana*)化感作用的机制, 其研究结果表明短凯伦藻产生的化感物质严重影响伪矮海链藻的能量代谢、细胞保护等途径; 同样利用代谢组和蛋白组技术, Song 等(2017)证明了微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)与真核绿藻小球藻(*Chlorella vulgaris*)之间复杂的化感效应, 结果表明微囊藻可以通过分泌亚油酸抑制小球藻的生长, 而同时利用小球藻产生的一氧化氮促进其亚油酸的合成。

值得关注的是, 近年来组学研究从传统的实验室单种培养逐渐拓展到 HAB 发生的现场实验。采集藻华形成前后的环境样品, 比较一个种或一个类群藻华形成前后、或不同类群之间的代谢通路调控差异, 有助于从分子水平上解析特定物种形成藻华的原因, 而宏转录组、宏蛋白质组测序技术将这种研究设想转化为现实。如 Cooper 等(2014)比较分析了微小原甲藻(*Prorocentrum minimum*)藻华的宏转录组与该物种单一株的转录组, 结果表明组装的宏转录组数据中“人为”嵌合序列(Chimeric contigs)百分比极低, 证明了宏转录组测序方法用于环境样品分析的可靠性; Zhuang 等(2015)比较分析亚历山大藻藻华形成前后的环境样品, 表明该物种有多个潜在的有机氮利用途径, 并在藻华时活跃表达碳浓缩机制、抗胁迫及产毒等相关通路的基因; 同样 MMETSP 数据库的建立也加速了宏转录组数据分析的发展, 如 Ji 等(2018)基于宏转录组测序技术对赤潮异弯藻藻华前后的环境样品进行宏转录组测序, 通过比对 MMETSP 数据库

获取该物种每个转录本的 reads 数, 最后利用 edgeR 软件和内参基因进行数据标准化, 获取藻华前后的差异表达基因, 结果表明在藻华形成过程中磷摄取、碳固定等相关基因显著上调, 而且疑似调控吞噬营养的相关基因也活跃表达, 这一系列调控模式可能促进了藻华的形成。基于分析不同时间点样品, Ji 等(2018)还发现光合作用、细胞周期、三羧酸循环等通路的相关基因明显受光周期调控, 同时作者还对环境中其余两个代表物种(中肋骨条藻和剧毒卡罗藻)基因调控进行了比较分析。Gong 等(2017)同样利用 MMETSP 数据比较分析了甲藻藻华前后的环境样品, 结果表明在藻华形成时甲藻能量产出、营养获取、生物素合成等相关通路基因上调表达。值得注意的是, 这些现场基因转录或翻译表达的研究需迅速采集样品并固定, 以确保所获得的信息能代表 HAB 生物在环境中的真实状况(Ji *et al.*, 2018)。

另外, 赤潮毒素合成的生化路径和分子调控机制的相关研究虽然取得一定进展, 但整体上还处于薄弱环节。在众多海洋赤潮毒素里, PSP 的合成路径受到较多的关注。由于有些蓝藻也产生同类的毒素, 且认为其合成路径由 26 个基因组成(Kellmann *et al.*, 2008), 因此基于毒素合成的相似性, 研究者开始在产 PSP 的甲藻里寻找同样的基因。基于转录组和蛋白组学等研究方法, 研究者已在甲藻中找到 13 个参与 PSP 合成相关基因, 其中仅 *sxtA* 和 *sxtG* 的研究较为深入(Hackett *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2016b)。值得注意的是, 同样在未报道过有产毒能力的亚历山大藻藻株中也鉴定到了 *sxtA* 和 *sxtG* 基因, 因此对这两个基因是否直接参与甲藻 PSP 合成仍有待深入研究(Murray *et al.*, 2011; Orr *et al.*, 2013)。另外, 有关短凯伦藻 polyketide 毒素合成的相关基因也被部分鉴定, 且研究表明该毒素合成路径与脂肪酸合成路径出现部分重叠(Monroe *et al.*, 2008; Kohli *et al.*, 2016)。

5 有害藻华对海洋生态环境和全球生物地球化学循环的影响

HAB 生物的爆发性增殖, 往往可以抑制周围环境中其他物种的生长, 产生的毒素甚至可以杀死竞争物种, 破坏食物链结构, 严重威胁藻华发生水域的生物多样性和生态平衡。同时, 藻华形成过程中生物对碳、氮、磷等元素的摄取以及藻华生物凋亡后各种元素的释放在一定程度上也影响着全球生物地球化学循环。Oh 等(2018)研究发现 2007 年韩国 Gamak Bay

多环旋沟藻(*Cochlodinium polykrikoides*)藻华发生后, 藻华发生海域的溶解有机碳(dissolved organic carbon, DOC)浓度是非藻华海域的 1.6 倍, 表明藻华的发生可以影响 DOC 的区域性分布及微生物代谢。二甲基硫醚(dimethyl sulfide, DMS)是生成云凝结核(cloud condensation nuclei)的重要化合物, 而 HAB 形成种棕囊藻(*Phaeocystis* spp.)是 DMS 前体的主要生产, Wang 等(2015)利用海洋生态地球模型研究了棕囊藻对 DMS 分布的影响, 结果表明在温水性和冷水性海域棕囊藻决定了 DMS 的分布, 并贡献了全球 13% 的 DMS。不仅如此, HAB 在全球多个海域造成低氧区, 严重威胁着底栖海洋生物的生存(Anderson *et al.*, 2001; Heisler *et al.*, 2008)。

6 有害藻华防治方法研究现状

HAB 防治方法研究是目前 HAB 管理中最具挑战性的工作之一, Anderson (2009)曾综述了一系列方法, 这些方法主要从物理、化学、生物、遗传学和环境学方面对 HAB 展开防治。撒播粘土是如今最为常见的物理学方法, 该方法主要通过粘土颗粒粘附 HAB 生物以达到去除目的。中国、韩国、美国等地都曾使用过该方法进行 HAB 治理, 虽然该方法成本较高且沉降物可能对底栖海洋生物的生存有一定影响(Sengco *et al.*, 2005; Yu *et al.*, 2017), 但改良后的粘土在降低成本的同时也提高了效率(Zhang *et al.*, 2018b); 化学法是指利用化学试剂杀死 HAB 生物, 目前这一系列方法主要停留在实验室研究阶段, 主要由于海水稀释扩散较快, 化学试剂很难达到有效浓度, 其次化学试剂残留的还会给环境带来二次污染; 生物学和遗传学方法较为类似, 主要利用 HAB 生物的竞争物种, 以达到抑制 HAB 生物生长的目的; 正如上面所述, 细菌和病毒均可有效的控制 HAB 生物生长, 因此可以从藻华形成时的生物群落中分离有效的细菌或病毒, 以实现 HAB 生物的灭活, 同时稳定该区域生态平衡; 环境学方法主要是通过物理或化学方法改变 HAB 生物所生存的环境, 比如搅动水体或者引入其他水源, 该方法一般只适用于小面积的淡水湖泊。综上所述, 目前 HAB 的治理技术大都处于理论或实验室阶段, 且每种方法都有其自身局限性。因此, HAB 的治理应该坚持以防为主的原则。近年来利用羟基自由基杀灭船只压舱水中的 HAB 生物就有助于防止它们的传播(Bai *et al.*, 2018), 同时加强废水处理力度控制近海富营养化也是十分有效的防治手段。

7 总结与展望

近年来由于人类活动的加剧,如水体富营养化,导致 HAB 发生的频率和规模逐年增大,其中一些 HAB 生物特别是产毒甲藻的研究逐渐成为热点。随着遥感监测手段的发展,研究者可以及时地了解 HAB 发展和迁徙的最新动向;一些分子技术如二代测序和三代测序的快速革新和商业化也为科研人员探究 HAB 形成的分子机理提供了新的研究思路。随着高通量测序技术发展和测序成本降低,(宏)转录组、小 RNA、长链非编码 RNA、(宏)基因组等研究方向将逐渐成为分子生态学研究中的热点(Lin, 2011)。另外,结合 HAB 生物的生理学、蛋白组学、代谢组学等研究方法,将实现从不同层次阐述 HAB 形成的机制。但 HAB 形成是个极其复杂的过程,目前其关键的环境与分子机制仍然不是十分清楚,且面临如下几个主要问题:(1) 目前的研究大多在实验室标准培养条件下进行,即使实验室可以模拟 HAB 发生时海区主要理化因子的变化,但藻华现场的环境因子情况非常复杂,实验室模拟很难真实、全面的反应现场情况。近年来现场研究正在不断增加但还不够,需要加强现场直接或间接观测种水平的生理参数(特别是细胞分裂速率)的能力,或者在藻华形成海区开展中小尺度实验;(2) 综合性研究不够,绝大部分研究聚焦于单一环境因子如不同营养盐、光照、温度等对 HAB 生物的影响以及它们在 HAB 形成过程中扮演的角色,从双因子或多因子偶联的全方位分析较少,但 HAB 的形成往往是多因子共同作用的结果,这导致对 HAB 形成机制的了解还不够系统和成熟,今后研究有必要从能量、营养盐、防御、繁殖等多视角探究赤潮形成机制与关键环境诱因;(3) 跨学科研究相对较少。利用遥感技术来监测藻华已经证明多学科交叉研究的重要意义,从生物、化学、物理等多角度研究 HAB 应该得到更多重视,如综合利用宏转录组学、代谢组学等方法,结合环境理化参数变化,分析 HAB 成因;(4) 现场自动长期观测的能力还很有限,今后需要加强,特别是整合多因子感应器,实现高频率采样,现场处理,得出数据后并实时传回实验室。

参 考 文 献

王爱军,王修林,韩秀荣等,2008.光照对东海赤潮高发区春季赤潮藻种生长和演替的影响.海洋环境科学,27(2): 144—148
 齐雨藻,邹景忠,梁松,2003.中国沿海赤潮.北京:科学出版社,1—2

林森杰,王路,郑连明等,2014.海洋生物 DNA 条形码研究现状与展望.海洋学报,36(12): 1—17
 赵以军,刘永定,1996.有害藻类及其微生物防治的基础——藻菌关系的研究动态.水生生物学报,20(2): 173—181
 侯建军,黄邦钦,赖红艳,2005.肽核酸探针技术在赤潮生物检测中的应用.中国公共卫生,21(12): 1524—1526
 Accoroni S, Percopo I, Cerino F *et al*, 2015. Allelopathic interactions between the HAB dinoflagellate *Ostreopsis cf. ovata* and macroalgae. Harmful Algae, 49: 147—155
 Ahn Y H, Shanmugam P, Ryu J H *et al*, 2006. Satellite detection of harmful algal bloom occurrences in Korean waters. Harmful Algae, 5(2): 213—231
 Ajani P A, Verma A, Lassudrie M *et al*, 2018. A new diatom species *P. hallegraeffii* sp. nov. belonging to the toxic genus *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) from the East Australian Current. PLoS One, 13(4): e0195622
 Amaral-Zettler L A, Dragone N B, Schell J *et al*, 2017. Comparative mitochondrial and chloroplast genomics of a genetically distinct form of *Sargassum* contributing to recent “Golden Tides” in the Western Atlantic. Ecology and Evolution, 7(2): 516—525
 Amin S A, Hmelo L R, Van Tol H M *et al*, 2015. Interaction and signalling between a cosmopolitan phytoplankton and associated bacteria. Nature, 522: 98—101
 Anderson D M, 2009. Approaches to monitoring, control and management of harmful algal blooms (HABs). Ocean & Coastal Management, 52(7): 342—347
 Anderson D M, Glibert P M, Burkholder J M, 2002. Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition, and consequences. Estuaries, 25(4): 704—726
 Anderson D M, Kulis D M, Keafer B A *et al*, 2005. Identification and enumeration of *Alexandrium* spp. from the Gulf of Maine using molecular probes. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 52(19—21): 2467—2490
 Anderson T H, Taylor G T, 2011. Nutrient pulses, plankton blooms, and seasonal hypoxia in western Long Island Sound. Estuaries, 24(2): 228—243
 Arzul G, Seguel M, Guzman L *et al*, 1999. Comparison of allelopathic properties in three toxic *Alexandrium* species. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 232(2): 285—295
 Bachvaroff T R, Place A R, 2008. From stop to start: tandem gene arrangement, copy number and trans-splicing sites in the dinoflagellate *Amphidinium carterae*. PLoS One, 3(8): e2929
 Bachvaroff T R, Place A R, Coats D W, 2009. Expressed sequence tags from *Amoebophrya* sp. infecting *Karlodinium veneficum*: comparing host and parasite sequences. Journal of Eukaryotic Microbiology, 56(6): 531—541
 Bai M D, Zheng W, Huang X D *et al*, 2018. Studies on the -OH inactivation of non-native aquatic organisms and potential disinfection byproduct formation for oceanic environmental safety. Plasma Chemistry and Plasma Processing, 38(5): 1051—1062
 Bender S J, Durkin C A, Berthiaume C T *et al*, 2014.

- Transcriptional responses of three model diatoms to nitrate limitation of growth. *Frontiers in Marine Science*, 1: 3
- Brient L, Ben Gamra N, Periot M *et al*, 2017. Rapid characterization of microcystin-producing cyanobacteria in freshwater lakes by TSA-FISH (Tyramid Signal Amplification-Fluorescent In Situ Hybridization). *Frontiers in Environmental Science*, 5: 43
- Cai Q S, Li R X, Zhen Y *et al*, 2006. Detection of two *Prorocentrum* species using sandwich hybridization integrated with nuclease protection assay. *Harmful Algae*, 5(3): 300—309
- Carlucci A F, 1970. Vitamin B₁₂, thiamine, biotin. The ecology of the phytoplankton off La Jolla, California, in the period April through September, 1967. *Bulletin, Scripps Institution of Oceanography*, 17: 23—31
- Chen G F, Liu Y, Zhang C Y *et al*, 2013. Development of rRNA-targeted probes for detection of *Prorocentrum micans* (Dinophyceae) using whole cell in situ hybridization. *Journal of Applied Phycology*, 25(4): 1077—1089
- Cooper E D, Bentlage B, Gibbons T R *et al*, 2014. Metatranscriptome profiling of a harmful algal bloom. *Harmful Algae*, 37: 75—83
- Cooper J T, Sinclair G A, Wawrik B, 2016. Transcriptome analysis of *Scrippsiella trochoidea* CCMP 3099 reveals physiological changes related to nitrate depletion. *Frontiers in Microbiology*, 7: 639
- Coyne K J, Handy S M, Demir E *et al*, 2005. Improved quantitative real-time PCR assays for enumeration of harmful algal species in field samples using an exogenous DNA reference standard. *Limnology and Oceanography: Methods*, 3(9): 381—391
- Cui Y D, Lin X, Zhang H *et al*, 2016. PhnW-PhnX pathway in dinoflagellates not functional to utilize extracellular phosphonates. *Frontiers in Marine Science*, 2: 120
- Dierksen H, McManus G B, Chlus A *et al*, 2015. Space station image captures a red tide ciliate bloom at high spectral and spatial resolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(48): 14783—14787
- Doll C, Main C R, Bianco C *et al*, 2014. Comparison of sandwich hybridization assay and quantitative PCR for the quantification of live and preserved cultures of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae). *Limnology and Oceanography: Methods*, 12(4): 230—245
- Doucette G J, 1995. Interactions between bacteria and harmful algae: a review. *Natural Toxins*, 3(2): 65—74
- Dyhrman S T, Chappell P D, Haley S T *et al*, 2006. Phosphonate utilization by the globally important marine diazotroph *Trichodesmium*. *Nature*, 439(7072): 68—71
- Engesmo A, Eikrem W, Seoane S *et al*, 2016. New insights into the morphology and phylogeny of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae), with the description of *Heterosigma minor* sp. nov. *Phycologia*, 55(3): 279—294
- Erdner D L, Anderson D M, 2006. Global transcriptional profiling of the toxic dinoflagellate *Alexandrium fundyense* using massively parallel signature sequencing. *BMC Genomics*, 7: 88
- Fu F X, Zhang Y H, Warner M E *et al*, 2008. A comparison of future increased CO₂ and temperature effects on sympatric *Heterosigma akashiwo* and *Prorocentrum minimum*. *Harmful Algae*, 7(1): 76—90
- Glibert P M, Icarus Allen J, Artioli Y *et al*, 2014. Vulnerability of coastal ecosystems to changes in harmful algal bloom distribution in response to climate change: projections based on model analysis. *Global Change Biology*, 20(12): 3845—3858
- Gobler C J, Berry D L, Dyhrman S T *et al*, 2011. Niche of harmful alga *Aureococcus anophagefferens* revealed through ecogenomics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(11): 4352—4357
- Gobler C J, Doherty O M, Hattenrath-Lehmann T K *et al*, 2017. Ocean warming since 1982 has expanded the niche of toxic algal blooms in the North Atlantic and North Pacific oceans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(19): 4975—4980
- Gong W D, Browne J, Hall N *et al*, 2017. Molecular insights into a dinoflagellate bloom. *The ISME Journal*, 11(2): 439—452
- Gruber N, Galloway J N, 2008. An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature*, 451(7176): 293—296
- Guo R Y, Wang H, Suh Y S *et al*, 2016. Transcriptomic profiles reveal the genome-wide responses of the harmful dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* when exposed to the algicide copper sulfate. *BMC Genomics*, 17: 29
- Hackett J D, Wisecaver J H, Brosnahan M L *et al*, 2012. Evolution of saxitoxin synthesis in cyanobacteria and dinoflagellates. *Molecular Biology and Evolution*, 30(1): 70—78
- Haley S T, Alexander H, Juhl A R *et al*, 2017. Transcriptional response of the harmful raphidophyte *Heterosigma akashiwo* to nitrate and phosphate stress. *Harmful Algae*, 68: 258—270
- Hallegraeff G M, 1993. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia*, 32(2): 79—99
- Harke M J, Juhl A R, Haley S T *et al*, 2017. Conserved transcriptional responses to nutrient stress in bloom-forming algae. *Frontiers in Microbiology*, 8: 1279
- Heisler J, Glibert P M, Burkholder J M *et al*, 2008. Eutrophication and harmful algal blooms: a scientific consensus. *Harmful Algae*, 8(1): 3—13
- Hu C M, Li D Q, Chen C S *et al*, 2010. On the recurrent *Ulva prolifera* blooms in the Yellow Sea and East China Sea. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 115(C5): C05017
- Huang H L, Zhu P, Zhou C X *et al*, 2017a. The development of loop-mediated isothermal amplification combined with lateral flow dipstick for detection of *Karlodinium veneticum*. *Harmful Algae*, 62: 20—29
- Huang H L, Zhu P, Zhou C X *et al*, 2017b. Detection of *Skeletonema costatum* based on loop-mediated isothermal amplification combined with lateral flow dipstick. *Molecular*

- and Cellular Probes, 36: 36—42
- Jaekisch N, Yang I, Wohlrab S *et al*, 2011. Comparative genomic and transcriptomic characterization of the toxigenic marine dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii*. PLoS One, 6(12): e28012
- Jeong H J, Du Yoo Y, Lee K H *et al*, 2013. Red tides in Masan Bay, Korea in 2004-2005: I. Daily variations in the abundance of red-tide organisms and environmental factors. Harmful Algae, 30(Suppl1): S75—S88
- Jeong H J, Du Yoo Y, Park J Y *et al*, 2005. Feeding by phototrophic red-tide dinoflagellates: five species newly revealed and six species previously known to be mixotrophic. Aquatic Microbial Ecology, 40(2): 133—150
- Jeong H J, Lim A S, Franks P J S *et al*, 2015. A hierarchy of conceptual models of red-tide generation: nutrition, behavior, and biological interactions. Harmful Algae, 47: 97—115
- 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. Journal of Eukaryotic Microbiology, 51(5): 563—569
- Ji N J, Lin L X, Li L *et al*, 2018. Metatranscriptome analysis reveals environmental and diel regulation of a *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) bloom. Environmental Microbiology, 20(3): 1078—1094
- Jing X L, Lin S J, Zhang H *et al*, 2017. Utilization of urea and expression profiles of related genes in the dinoflagellate *Prorocentrum donghaiense*. PLoS One, 12(11): e0187837
- John U, Litaker R W, Montresor M *et al*, 2014. Formal revision of the *Alexandrium tamarense* species complex (Dinophyceae) taxonomy: the introduction of five species with emphasis on molecular-based (rDNA) classification. Protist, 165(6): 779—804
- Keeling P J, Burki F, Wilcox H M *et al*, 2014. The Marine Microbial Eukaryote Transcriptome Sequencing Project (MMETSP): illuminating the functional diversity of eukaryotic life in the oceans through transcriptome sequencing. PLoS Biology, 12(6): e1001889
- Kellmann R, Mihali T K, Jeon Y J *et al*, 2008. Biosynthetic intermediate analysis and functional homology reveal a saxitoxin gene cluster in cyanobacteria. Applied and Environmental Microbiology, 74(13): 4044—4053
- Kohli G S, John U, Van Dolah F M *et al*, 2016. Evolutionary distinctiveness of fatty acid and polyketide synthesis in eukaryotes. The ISME Journal, 10(8): 1877—1890
- Krumhardt K M, Callnan K, Roache-Johnson K *et al*, 2013. Effects of phosphorus starvation versus limitation on the marine cyanobacterium *Prochlorococcus* MED4 I: uptake physiology. Environmental Microbiology, 15(7): 2114—2128
- Latasa M, Berdalet E, 1994. Effect of nitrogen or phosphorus starvation on pigment composition of cultured *Heterocapsa* sp. Journal of Plankton Research, 16(1): 83—94
- Lei Q Y, Lu S H, 2011. Molecular ecological responses of the dinoflagellate *Karenia mikimotoi* to phosphate stress. Harmful Algae, 12: 39—45
- Li Y, Huang C X, Xu G S *et al*, 2017. *Pseudo-nitzschia simulans* sp. nov. (Bacillariophyceae), the first domoic acid producer from Chinese waters. Harmful Algae, 67: 119—130
- Lilly E L, Halanych K M, Anderson D M, 2007. Species boundaries and global biogeography of the *Alexandrium tamarense* complex (Dinophyceae). Journal of Phycology, 43(6): 1329—1338
- Lin S J, 2008. Use of molecular markers for early warning detection of harmful algal blooms. International Journal of Environment and Pollution, 33(4): 381—406
- Lin S J, 2011. Genomic understanding of dinoflagellates. Research in Microbiology, 162(6): 551—569
- Lin S J, Chang J, Carpenter E J, 1994. Detection of proliferating cell nuclear antigen analog in four species of marine phytoplankton. Journal of Phycology, 30(3): 449—456
- Lin S J, Litaker R W, Sunda W G, 2016. Phosphorus physiological ecology and molecular mechanisms in marine phytoplankton. Journal of Phycology 52(1): 10—36
- Lin S J, Zhang H, Dubois A, 2006. Low abundance distribution of *Pfiesteria piscicida* in Pacific and Western Atlantic as detected by mtDNA-18S rDNA real-time polymerase chain reaction. Journal of Plankton Research, 28(7): 667—681
- Lin X, Zhang H, Huang B Q *et al*, 2011. Alkaline phosphatase gene sequence and transcriptional regulation by phosphate limitation in *Amphidinium carterae* (Dinophyceae). Journal of Phycology, 47(5): 1110—1120
- Lin X, Zhang H, Huang B Q *et al*, 2012. Alkaline phosphatase gene sequence characteristics and transcriptional regulation by phosphate limitation in *Karenia brevis* (Dinophyceae). Harmful Algae, 17: 14—24
- Litaker R W, Stewart T N, Eberhart B T L *et al*, 2008. Rapid enzyme-linked immunosorbent assay for detection of the algal toxin domoic acid. Journal of Shellfish Research, 27(5): 1301—1310
- Liu Z F, Jones A C, Campbell V *et al*, 2015. Gene expression in the mixotrophic prymnesiophyte, *Prymnesium parvum*, responds to prey availability. Frontiers in Microbiology, 6: 319
- Lu D, Qi Y, Gu H *et al*, 2014. Causative species of harmful algal blooms in Chinese coastal waters. Algological Studies, 145(1): 145—168
- Luo H, Lin X, Li L *et al*, 2017. Transcriptomic and physiological analyses of the dinoflagellate *Karenia mikimotoi* reveal non-alkaline phosphatase-based molecular machinery of ATP utilisation. Environmental Microbiology, 19(11): 4506—4518
- Matsuyama Y, Uchida T, Kotani Y, 2000. Effect of culture filtrate of raphidophytes *Heterosigma akashiwo* and *Chattonella antiqua* on the growth of diatom *Skeletonema costatum*. Bulletin of Fisheries and Environment of Inland Sea, 2: 57—66
- McGrath J W, Chin J P, Quinn J P, 2013. Organophosphonates revealed: new insights into the microbial metabolism of ancient molecules. Nature Reviews Microbiology, 11(6):

- 412—419
- McLean T I, 2013. “Eco-omics”: A review of the application of genomics, transcriptomics, and proteomics for the study of the ecology of Harmful Algae. *Microbial Ecology*, 5(4): 901—915
- Meyer N, Bigalke A, Kaulfuß A *et al*, 2017. Strategies and ecological roles of algicidal bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(6): 880—899
- Mitsutani A, Yamasaki I, Kitaguchi H *et al*, 2001. Analysis of algicidal proteins of a diatom-lytic marine bacterium *Pseudoalteromonas* sp. strain A25 by two-dimensional electrophoresis. *Phycologia*, 40(3): 286—291
- Monroe E A, Van Dolah F M, 2008. The toxic dinoflagellate *Karenia brevis* encodes novel type I-like polyketide synthases containing discrete catalytic domains. *Protist*, 159(3): 471—482
- Morey J S, Monroe E A, Kinney A L *et al*, 2011. Transcriptomic response of the red tide dinoflagellate, *Karenia brevis*, to nitrogen and phosphorus depletion and addition. *BMC Genomics*, 12: 346
- Moustafa A, Evans A N, Kulis D M *et al*, 2010. Transcriptome profiling of a toxic dinoflagellate reveals a gene-rich protist and a potential impact on gene expression due to bacterial presence. *PLoS One*, 5(3): e9688
- Murray S A, Wiese M, Stüken A *et al*, 2011. *sxtA*-based quantitative molecular assay to identify saxitoxin-producing harmful algal blooms in marine waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(19): 7050—7057
- Nascimento S M, Mendes M C Q, Menezes M *et al*, 2017. Morphology and phylogeny of *Prorocentrum caipirignum* sp. nov. (Dinophyceae), a new tropical toxic benthic dinoflagellate. *Harmful Algae*, 70: 73—89
- Oh Y H, Lee Y W, Kim T H, 2018. *In situ* production of dissolved organic carbon (DOC) by phytoplankton blooms (*Cochlodinium polykrikoides*) in the southern sea of Korea. *Journal of Sea Research*, 138: 19—23
- Orr R J S, Stüken A, Murray S A *et al*, 2013. Evolutionary acquisition and loss of saxitoxin biosynthesis in dinoflagellates: the second “core” gene, *sxtG*. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(7): 2128—2136
- Ou G Y, Wang H, Si R R *et al*, 2017. The dinoflagellate *Akashiwo sanguinea* will benefit from future climate change: the interactive effects of ocean acidification, warming and high irradiance on photophysiology and hemolytic activity. *Harmful Algae*, 68: 118—127
- Paerl H W, Huisman J, 2009. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environmental Microbiology Reports*, 1(1): 27—37
- Poulson-Ellestad K L, Jones C M, Roy J *et al*, 2014. Metabolomics and proteomics reveal impacts of chemically mediated competition on marine plankton. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(24): 9009—9014
- Prince E K, Irmer F, Pohnert G, 2013. Domoic acid improves the competitive ability of *Pseudo-nitzschia delicatissima* against the diatom *Skeletonema marinoi*. *Marine Drugs*, 11(7): 2398—2412
- Prince E K, Poulson K L, Myers T L *et al*, 2010. Characterization of allelopathic compounds from the red tide dinoflagellate *Karenia brevis*. *Harmful Algae*, 10(1): 39—48
- Qi L, Hu C M, Wang M Q *et al*, 2017. Floating algae blooms in the East China Sea. *Geophysical Research Letters*, 44(22): 11501—11509
- Qiu D J, Huang L M, Liu S *et al*, 2013. Apical groove type and molecular phylogeny suggests reclassification of *Cochlodinium geminatum* as *Polykrikos geminatum*. *PLoS One*, 8(8): e71346
- Quinn J P, Kulakova A N, Cooley N A *et al*, 2007. New ways to break an old bond: the bacterial carbon-phosphorus hydrolases and their role in biogeochemical phosphorus cycling. *Environmental Microbiology*, 9(10): 2392—2400
- Roth P B, Twiner M J, Mikulski C M *et al*, 2008. Comparative analysis of two algicidal bacteria active against the red tide dinoflagellate *Karenia brevis*. *Harmful Algae*, 7(5): 682—691
- Rue E, Bruland K, 2001. Domoic acid binds iron and copper: a possible role for the toxin produced by the marine diatom *Pseudo-nitzschia*. *Marine Chemistry*, 76(1—2): 127—134
- Scholin C, Doucette G, Jensen S *et al*, 2009. Remote detection of marine microbes, small invertebrates, harmful algae, and biotoxins using the Environmental Sample Processor (ESP). *Oceanography*, 22(2): 158—167
- Sengco M R, Hagström J A, Granéli E *et al*, 2005. Removal of *Prymnesium parvum* (Haptophyceae) and its toxins using clay minerals. *Harmful Algae*, 4(2): 261—274
- Shang S L, Wu J Y, Huang B Q *et al*, 2014. A new approach to discriminate dinoflagellate from diatom blooms from space in the East China Sea. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 119(7): 4653—4668
- Shi X G, Li L, Guo C T *et al*, 2015. Rhodopsin gene expression regulated by the light dark cycle, light spectrum and light intensity in the dinoflagellate *Prorocentrum*. *Frontiers in Microbiology*, 6: 555
- Shi X G, Lin X, Li L *et al*, 2017a. Transcriptomic and microRNAomic profiling reveals multi-faceted mechanisms to cope with phosphate stress in a dinoflagellate. *The ISME Journal*, 11(10): 2209—2218
- Shi X G, Ma M L, Lin S J, 2017b. Cell cycle-dependent expression dynamics of G1/S specific cyclin, cellulose synthase and cellulase in the dinoflagellate *Prorocentrum donghaiense*. *Frontiers in Microbiology*, 8: 1118
- Shikata T, Matsunaga S, Nishide H *et al*, 2015. Diurnal vertical migration rhythms and their photoresponse in four phytoflagellates causing harmful algal blooms. *Limnology and Oceanography*, 60(4): 1251—1264
- Song H, Lavoie M, Fan X J *et al*, 2017. Allelopathic interactions of linoleic acid and nitric oxide increase the competitive ability of *Microcystis aeruginosa*. *The ISME Journal*, 11(8): 1865—1876
- Sunda W G, 2006. Trace metals and harmful algal blooms. In:

- Granéli E, Turner J T eds. Ecology of Harmful Algae. Berlin, Heidelberg: Springer, 203—214
- Suttle C A, 2007. Marine viruses-major players in the global ecosystem. *Nature Reviews Microbiology*, 5(10): 801—812
- Takahashi M, Fukazawa N, 1982. A mechanism of “red-tide” formation. Effect of selective nutrient stimulation on the growth of different phytoplankton species in natural water. *Marine Biology*, 70(3): 267—273
- Tang D L, Kawamura H, Doan-Nhu H *et al*, 2004. Remote sensing oceanography of a harmful algal bloom off the coast of southeastern Vietnam. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 109(C3): C03014
- Tang Y Z, Koch F, Gobler C J, 2010. Most harmful algal bloom species are vitamin B₁ and B₁₂ auxotrophs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(48): 20756—20761
- Tao B Y, Mao Z H, Lei H *et al*, 2017. A semianalytical MERIS green-red band algorithm for identifying phytoplankton bloom types in the East China Sea. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 122(3): 1772—1788
- Teikari J E, Fewer D P, Shrestha R *et al*, 2018. Strains of the toxic and bloom-forming *Nodularia spumigena* (cyanobacteria) can degrade methylphosphonate and release methane. *The ISME Journal*, 12(6): 1619—1630
- Teng S T, Lim P T, Lim H C *et al*, 2015. A non-toxicogenic but morphologically and phylogenetically distinct new species of *Pseudo-nitzschia*, *P. sabit* sp. nov. (Bacillariophyceae). *Journal of Phycology*, 51(4): 706—725
- Tian R X, Chen J F, Sun X W *et al*, 2018. Algae explosive growth mechanism enabling weather-like forecast of harmful algal blooms. *Scientific Reports*, 8: 9923
- Tomlinson M C, Stumpf R P, Ransibrahmanakul V *et al*, 2004. Evaluation of the use of SeaWiFS imagery for detecting *Karenia brevis* harmful algal blooms in the eastern Gulf of Mexico. *Remote Sensing of Environment*, 91(3—4): 293—303
- Turner J T, 2006. Harmful algae interactions with marine planktonic grazers. In: Granéli E, Turner J T eds. Ecology of Harmful Algae. Berlin, Heidelberg: Springer, 259—270
- Uribe P, Fuentes D, Valdés J *et al*, 2008. Preparation and analysis of an expressed sequence tag library from the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*. *Marine Biotechnology*, 10(6): 692—700
- Van de Waal D B, Eberlein T, John U *et al*, 2014. Impact of elevated pCO₂ on paralytic shellfish poisoning toxin content and composition in *Alexandrium tamarense*. *Toxicon*, 78: 58—67
- Van Mooy B A S, Rocap G, Fredricks H F *et al*, 2006. Sulfolipids dramatically decrease phosphorus demand by picocyanobacteria in oligotrophic marine environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(23): 8607—8612
- Wang B X, Yang X R, Lu J L *et al*, 2012. A marine bacterium producing protein with algicidal activity against *Alexandrium tamarense*. *Harmful Algae*, 13: 83—88
- Wang C, Lin X, Li L *et al*, 2016a. Differential growth responses of marine phytoplankton to herbicide glyphosate. *PLoS One*, 11(3): e0151633
- Wang C, Lin X, Li L *et al*, 2017. Glyphosate shapes a dinoflagellate-associated bacterial community while supporting algal growth as sole phosphorus source. *Frontiers in Microbiology*, 8: 2530
- Wang D Z, Zhang S F, Zhang Y *et al*, 2016b. Paralytic shellfish toxin biosynthesis in cyanobacteria and dinoflagellates: A molecular overview. *Journal of Proteomics*, 135: 132—140
- Wang L, Lin X, Goes J I *et al*, 2016c. Phylogenetic analyses of three genes of *Pedinomonas noctilucae*, the green endosymbiont of the marine dinoflagellate *Noctiluca scintillans*, reveal its affiliation to the order Marsupiomonadales (Chlorophyta, Pedinophyceae) under the reinstated name *Protoeuglena noctilucae*. *Protist*, 167(2): 205—216
- Wang L, Zhuang Y Y, Zhang H *et al*, 2014. DNA barcoding species in *Alexandrium tamarense* complex using ITS and proposing designation of five species. *Harmful Algae*, 31: 100—113
- Wang S L, Elliott S, Maltrud M *et al*, 2015. Influence of explicit *Phaeocystis* parameterizations on the global distribution of marine dimethyl sulfide. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 120(11): 2158—2177
- Wang Y F, Bouchard J N, Coyne K J, 2018. Expression of novel nitrate reductase genes in the harmful alga, *Chattonella subsalsa*. *Scientific Reports*, 8: 13417
- Wang Y L, Morse D, 2006. Rampant polyuridylylation of plastid gene transcripts in the dinoflagellate *Lingulodinium*. *Nucleic Acids Research*, 34(2): 613—619
- Wang Z H, Liang Y, Kang W, 2011. Utilization of dissolved organic phosphorus by different groups of phytoplankton taxa. *Harmful Algae*, 12: 113—118
- Wells M L, Trainer V L, Smayda T J *et al*, 2015. Harmful algal blooms and climate change: Learning from the past and present to forecast the future. *Harmful Algae*, 49: 68—93
- Wisecaver J H, Hackett J D, 2010. Transcriptome analysis reveals nuclear-encoded proteins for the maintenance of temporary plastids in the dinoflagellate *Dinophysis acuminata*. *BMC Genomics*, 11: 366
- Wurch L L, Bertrand E M, Saito M A *et al*, 2011a. Proteome changes driven by phosphorus deficiency and recovery in the brown tide-forming alga *Aureococcus anophagefferens*. *PLoS One*, 6(12): e28949
- Wurch L L, Haley S T, Orchard E D *et al*, 2011b. Nutrient-regulated transcriptional responses in the brown tide-forming alga *Aureococcus anophagefferens*. *Environmental Microbiology*, 13(2): 468—481
- Xiao W P, Liu X, Irwin A J *et al*, 2018. Warming and eutrophication combine to restructure diatoms and dinoflagellates. *Water Research*, 128: 206—216
- Xin Z Y, Yu Z G, Wang T C *et al*, 2005. Identification and quantification of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium* sp. with competitive enzyme-linked immunosorbent assay

- (cELISA). *Harmful Algae*, 4(2): 297—307
- Yang I, Beszteri S, Tillmann U *et al*, 2011. Growth- and nutrient-dependent gene expression in the toxigenic marine dinoflagellate *Alexandrium minutum*. *Harmful Algae*, 12: 55—69
- Young C L, Ingall E D, 2010. Marine dissolved organic phosphorus composition: insights from samples recovered using combined electro dialysis/reverse osmosis. *Aquatic Geochemistry*, 16(4): 563—574
- Yu Z M, Song X X, Cao X H *et al*, 2017. Mitigation of harmful algal blooms using modified clays: Theory, mechanisms, and applications. *Harmful Algae*, 69: 48—64
- Zhang C, Lin S J 2019a. Initial evidence of functional siRNA machinery in dinoflagellates. *Harmful Algae*, 81: 53—58
- Zhang C, Luo H, Huang L M *et al*, 2017. Molecular mechanism of glucose-6-phosphate utilization in the dinoflagellate *Karenia mikimotoi*. *Harmful Algae*, 67: 74—84
- Zhang C Y, Wang Y Y, Guo C L *et al*, 2018a. Comparison of loop-mediated isothermal amplification with hyperbranched rolling circle amplification as a simple detection method for *Heterosigma akashiwo*. *Harmful Algae*, 73: 1—11
- Zhang H, Hou Y B, Lin S J, 2006. Isolation and characterization of proliferating cell nuclear antigen from the dinoflagellate *Pfiesteria piscicida*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 53(2): 142—150
- Zhang H, Lin S J, 2008. mRNA editing and spliced-leader RNA trans-splicing groups *Oxyrrhis*, *Noctiluca*, *Heterocapsa*, and *Amphidinium* as basal lineages of dinoflagellates. *Journal of Phycology*, 44(3): 703—711
- Zhang H, Wang D Z, Xie Z X *et al*, 2015. Comparative proteomics reveals highly and differentially expressed proteins in field-collected and laboratory-cultured blooming cells of the diatom *Skeletonema costatum*. *Environmental Microbiology*, 17(10): 3976—3991
- Zhang S F, Yuan C J, Chen Y *et al*, 2016. Comparative transcriptomic analysis reveals novel insights into the adaptive response of *Skeletonema costatum* to changing ambient phosphorus. *Frontiers in Microbiology*, 7: 1476
- Zhang Y Q, Lin X, Shi X *et al*, 2019b. Metatranscriptomic signatures associated with regime shift from diatom dominance to a dinoflagellate bloom. *Frontiers in Microbiology*, doi: 10.3389/fmicb.2019.00590
- Zhang Y, Yu Z M, Song X X *et al*, 2018b. Effects of modified clay used for the control of harmful algal blooms on *Alexandrium pacificum* cysts. *Harmful Algae*, 72: 36—45
- Zhen Y, Mi T Z, Yu Z G, 2008. Detection of *Phaeocystis globosa* using sandwich hybridization integrated with nuclease protection assay (NPA-SH). *Journal of Environmental Sciences*, 20(12): 1481—1486
- Zhuang Y Y, Zhang H, Hannick L *et al*, 2015. Metatranscriptome profiling reveals versatile N-nutrient utilization, CO₂ limitation, oxidative stress, and active toxin production in an *Alexandrium fundyense* bloom. *Harmful Algae*, 42: 60—70
- Zhuang Y Y, Zhang H, Lin S J, 2013. Cyclin B gene and its cell cycle-dependent differential expression in the toxic dinoflagellate *Alexandrium fundyense* Atama Group I/Clade I. *Harmful Algae*, 26: 71—79

RECENT PROGRESS IN MARINE HARMFUL ALGAL BLOOM RESEARCH

LIN Sen-Jie, JI Nan-Jing, LUO Hao

(State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

Abstract In a marine ecosystem, phytoplankton not only serves as the base of the food web, but also plays an important role in the biogeochemical cycle. However, some of the species could form exceptional blooms and cause significant damages to local economies, marine ecosystems, global biogeochemical cycle and human health. These events are known as harmful algal blooms (HABs), and are also commonly called Red Tides because some blooms can discolor the water in red or brown. HABs have increased in frequency, geographic extent, and intensity with eutrophication and global climate change, and its research is increasingly catching attention. In this review, we summarize the major progress in HAB research in the last decade, covering topic areas of species identification, influencing factors, and the molecular mechanisms of bloom formation. The current challenges and future prospects of HAB study are also discussed.

Over the past 10 years, advances have been made in HAB research, which can be summarized as follows. (1) Many new HAB species have been identified and the taxonomy has been significantly reconstructed and improved. (2) New methods and technologies for HAB monitoring and research are increasingly available. (3) There have been increasing efforts and improved understanding of biosynthesis pathways of algal toxins. (4) On top of the sustained ecological and oceanographic research of HABs, research of modern omics and molecular mechanisms has advanced significantly. However, the key environmental triggers and biological (particularly biochemical and molecular) mechanisms remain elusive, with no available triggering factor for predicting HAB outbreaks. The shortcoming is because HAB formation is a complex ecological process, which is likely species-specific and ecosystem-specific on the one hand, and because HAB research still falls short of integrated, comprehensive, and systematic manner on the other hand. We propose that in the future, more efforts should be invested in integrative, comprehensive, and systematic approach on key representative HAB species, similar to the research on model organisms in life science. This requires a combination of laboratory experiments on cultured species, mesocosm experiments on multi-species communities, and natural plankton assemblages, and in the meantime technological integration of modern omics, traditional physioecology, and real-time *in situ* monitoring.

Key words phytoplankton; harmful algal blooms; molecular mechanism