

甲藻塔玛亚历山大藻昼夜垂直 迁移特性的研究*

齐雨藻 黄长江 钟彦 郑磊

(暨南大学水生生物研究所, 广州 510632)

提要 分离于香港海域的塔玛亚历山大藻单克隆藻株的昼夜垂直迁移特性的实验研究于1994年9月—1995年4月在暨南大学水生生物研究所的人工培养柱里进行。结果表明, 该藻具有显著的趋光性和节律性昼夜垂直迁移行为。其昼夜垂直迁移的一般规律为光照开始后立即向上迁移, 向下迁移则从光照结束前2h左右开始, 直至光照结束后1h左右才在底部形成细胞的最大分布, 但在连续光照或无光照的第2或第3天以后, 这种规律性的昼夜垂直迁移即完全消失。因此, 该藻垂直迁移的调控机制表现为显著的趋光性, 但生物学节律可能也起着一定的作用。塔玛亚历山大藻垂直迁移速度与水柱温度密切相关, 水柱温度越接近其最适生长温度或垂直温度梯度越小时, 其垂直迁移速度越快, 在12.5℃以下, 则完全丧失垂直迁移的能力。塔玛亚历山大藻的上迁速度一般比下迁速度快, 在最适温度范围里, 其向上迁移速度最高可达1.20m/h; 而下迁速度最高只有0.70m/h。缺氮条件下塔玛亚历山大藻的迁移速度明显减慢, 光照期避开表面而聚集于亚表层, 并有明显的提前下移的倾向。

关键词 赤潮 甲藻 塔玛亚历山大藻 昼夜垂直迁移

塔玛亚历山大藻 (*Alexandrium tamarense*) 是一种全球分布的有毒涡鞭毛藻, 由于是重要的赤潮原因生物, 而且其具有的毒素经食物链传递后形成麻痹性贝毒对水域环境和人类健康都具有极大的危害, 所以一直是世界各国学者的重要研究对象。国外学者 (Anderson et al., 1983, 1994) 已对该藻的形态分类、自然生态、生理和毒理等方面进行了较为详细的研究, 目前的研究目标大多集中在分子生物学和分子遗传学方面; 而我国对该藻的研究开展得较迟, 近年的报道主要是有关其形态分类和某些生理生态方面的研究 (齐雨藻等, 1997)。虽然已有一些关于亚历山大藻属其它种类的昼夜垂直迁移的研究报道 (Maclsaac, 1978; Heaney et al., 1981; 周名江等, 1994), 但对塔玛亚历山大藻昼夜垂直迁移的研究尚未见报道。为此, 本文作者对分离于香港海域的塔玛亚历山大藻单克隆藻株的昼夜垂直迁移特性及不同光节律、水温和营养盐对其垂直迁移的影响进行了研究。

1 材料、装置与方法

1.1 材料

塔玛亚历山大藻系分离于香港海域, 培养物保存在暨南大学水生生物研究所藻种室,

*国家自然科学基金资助项目, 9389008号。齐雨藻, 男, 出生于1933年1月, 教授。

收稿日期: 1996年4月3日, 接受日期: 1997年6月10日。

编号为 ATHK01。

1.2 装置

由培养柱、光源和隔热水槽组成。培养柱包括两根内径为 4cm、高分别为 100 和 195cm 的玻璃柱及一根内径为 10.6cm、高 200cm 的不透明硬聚氯乙烯柱。玻璃柱外被锡箔,并用黑棉布裹紧。所有培养柱都每隔 20cm 壁上做一外径为 2mm、内径为 1mm、长为 2mm 或 8mm 的不透明玻璃采样管,其中 10.6 × 200cm 培养柱的采样管的内端延伸至柱正中央。光源由 100, 200 和 300W 的白炽灯泡, 500 和 1 000W 的卤钨灯及 1 000W 半反射灯泡提供,置于培养柱的上方,透过隔热水槽到达柱顶端的光照度值见表 1。玻璃隔热水槽位于光源与培养柱之间,内置 2.5 或 4cm 厚的循环冷却水,以达冷却效果。

1.3 方法

1.3.1 预培养 实验前的预培养液为 f/2 加富海水,温度为 19—22℃,盐度约为 32,光强为 5 000lx,光周期 L:D = 12:12h (本研究中所有光周期 L:D = 12:12h 的光照期都是 8:00—20:00)。实验开始时,将适量处于对数生长期的藻液引入水柱,用新鲜 f/2 加富海水稀释,再按 1:1 000 的比例加入海泥浸出液,最终使实验水柱中的藻细胞平均密度为 1 000cell/ml 左右。所有实验的藻液引入时间都于光周期结束后进行,适应培养时间都不少于 48h。

1.3.2 采样、计数和数据处理 玻璃柱每个采样点每次采 2ml, 10.6 × 200cm 培养柱则采 10ml。样品采集后立即用振荡器振荡 20s 混匀,用 0.1ml 计数框重复计数 3 次,取平均值。为了消除部分个体附壁或沉淀对结果的影响,计算数据全部用占总生物量的百分比来表示。垂直迁移速度用 Kamykowski 等(1976)的方法计算。

1.3.3 趋光实验 用 4 × 100cm 的培养柱,经光周期为 L:D = 12:12h 的 2d 适应培养后进行。第 3 天采样后,按正常的光照时间打开柱上方的 100W 的白炽灯,照射 3h 后再采样。接着将柱上方灯关闭,用黑布封住柱口,解开 0.8m 处的黑布,用另一只灯照射 3h 后采样。最后,关闭此灯,将柱轻轻摇动 2min 后采样,并在柱上方和 0.8m 处的灯同时照射 3h 后再采样。

1.3.4 无光照、连续光照和光节律改变实验 用 100W 白炽灯于 4 × 100cm 的培养柱上方照射,经光周期为 L:D = 12:12h 的 2d 适应后进行。内容包括正常对照(L:D = 12:12h)、连续 48h 无光照、连续 48h 光照和光节律改变(L:D 从 12:12h 改变为 8:16h)等 4 项。

1.3.5 水温及温度梯度与垂直迁移的关系 实验在 4 × 195cm 培养柱,按 L:D = 10:14h 的光周期(光照期为 9:00—19:00)进行。分别用 100, 300, 500 和 1 000W 的光源于培养柱上方照射,使水柱在光照期间的温度梯度分别为 12.2—14.9, 13.7—21.4, 18.0—25.6, 18.1—27.8 和 18.1—29.5℃,经 3d 适应后,采样和测温。测温方法是将测温探头预先置于柱底,采样后缓缓将探头提升至各测量点,稳定 2min 后读数,测量后再将其缓缓降至柱底。

表1 各种光源透过水槽内2.5—4.0cm水层后到达培养柱顶端的光照值

Tab.1 The incident irradiance value of each kind of light passing through the tank 2.5—4.0cm water column to the top of culture column

光源(W)	光照度(lx)
100(白炽灯)	3 200
200(白炽灯)	8 500
300(白炽灯)	11 500
500(卤钨灯)	2 900
1000(半反泡)	4 200

1.3.6 逐渐缺氮对垂直迁移的影响 实验在 $10.6 \times 200\text{cm}$ 的培养柱中,按 L:D = 10:14h光周期(光照期为 9:00—19:00)进行。对照实验采用正常的 f/2 加富海水,缺氮实验则用缺氮 f/2 培养液(远洋海水配制)稀释 10 倍后于 18—21℃ 下预先培养 10d,然后用新鲜缺氮培养液稀释 1 倍引入柱中,第 1,2 天用 500W 光源,第 3 天用 1 000W 光源照射。由于所用藻量巨大,难免有些沉淀,所以底层的数据弃之不用。

2 结果与讨论

2.1 结果

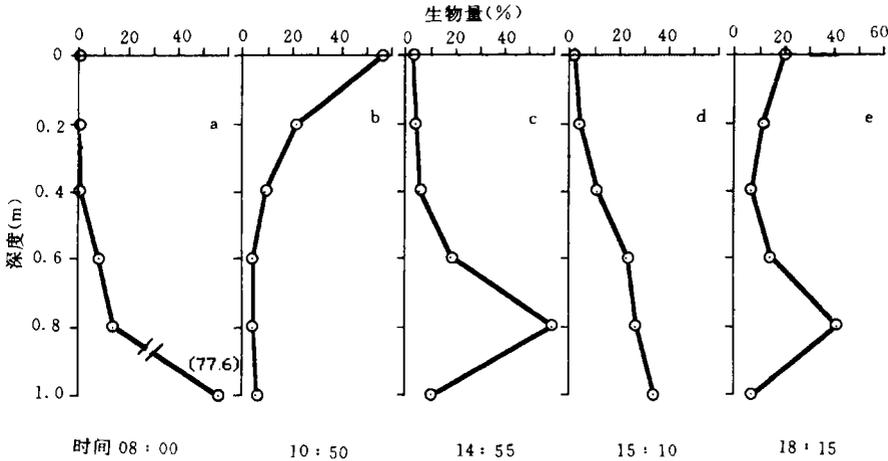


图 1 塔玛亚历山大藻的趋光性实验

Fig.1 Phototaxis experiment of *Alexandrium tamarense*

a 和 b 为光源于培养柱上方照射前和照射后 3h 后的垂直分布; c 是关掉上方光源在 0.8m 处照射 3h 后的垂直分布; d 和 e 为 c 实验后摇匀培养柱再在柱上方及 0.8m 处同时照射 3h 后的垂直分布

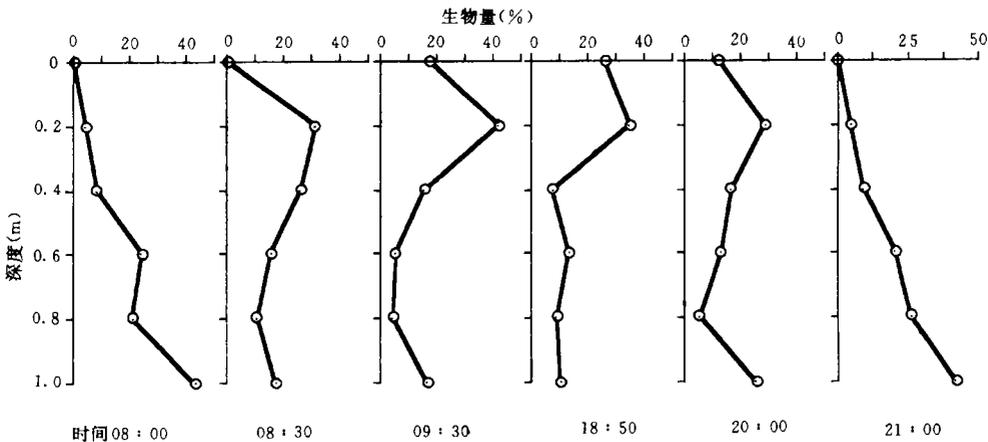


图 2 塔玛亚历山大藻的昼夜垂直迁移

Fig.2 Diurnal vertical migration of *Alexandrium tamarense*

2.1.1 趋光性实验 由图 1 可以看出, 塔玛亚历山大藻垂直迁移的趋光特性十分明显, 何处有光源就往何处迁移, 并在那里形成细胞密集区。

2.1.2 无光照、连续光照和光节律改变实验 塔玛亚历山大藻在暗期密集分布于柱底, 光照开始后即向上迁移, 经 2—3h 即可在水柱表面密集, 此时水柱底表温度为 21.0—24.0℃, 细胞向上迁移速度为 1.03—1.09m / h。光照结束前 1—2h, 细胞即以约 0.50m / h 的速度向下迁移, 但迁移过程一般持续至光照结束后 1h 左右 (图 2)。这种节律性的昼夜垂直迁移在全黑暗实验开始后的第 1 天尚有不完整的迁移, 但第 2 天就完全消失 (图 3a)。连续光照 24h 后, 细胞节律性的垂直迁移也完全消失 (图 3b)。光照期从 8:00—20:00 改为 9:00—17:00 后的第 3 天, 向上迁移仍发生在 8:00 左右, 即光照开始前 1h。但是, 向下迁移则和改变节律前一样, 从光照期结束前就开始, 并一直持续至光照结束后 1h 左右才完成 (图 3c)。

2.1.3 水温及温度梯度与垂直迁移的关系 图 4a 实验光照期的室温为

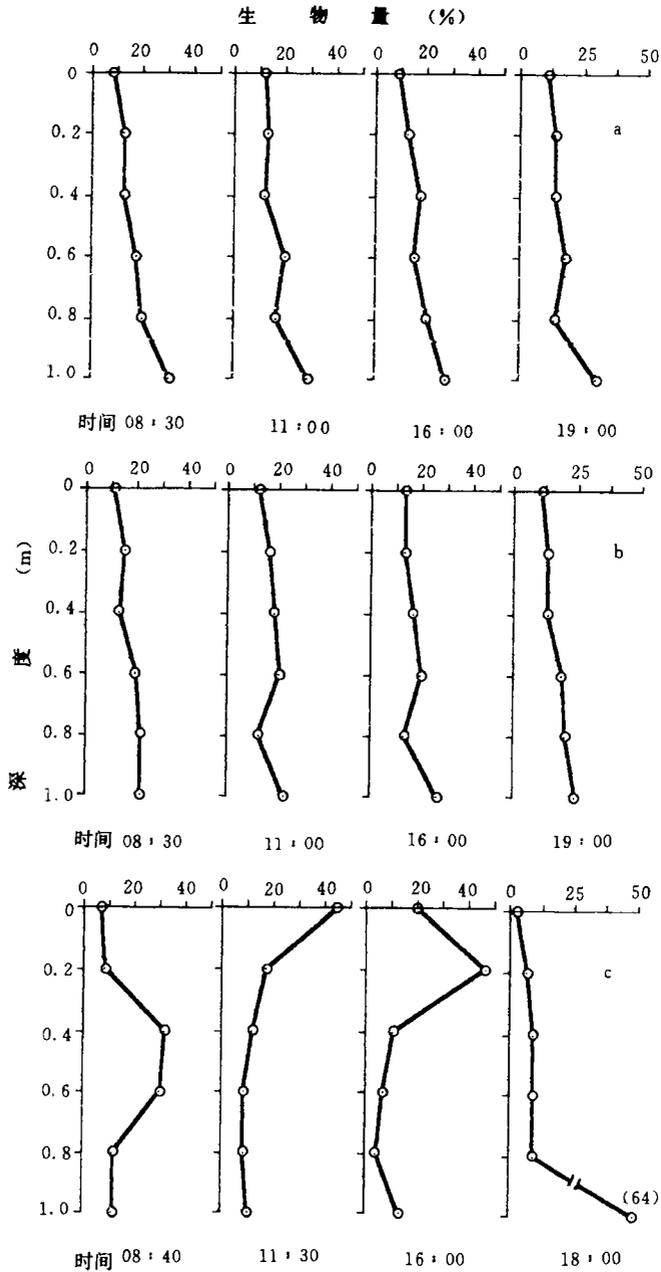
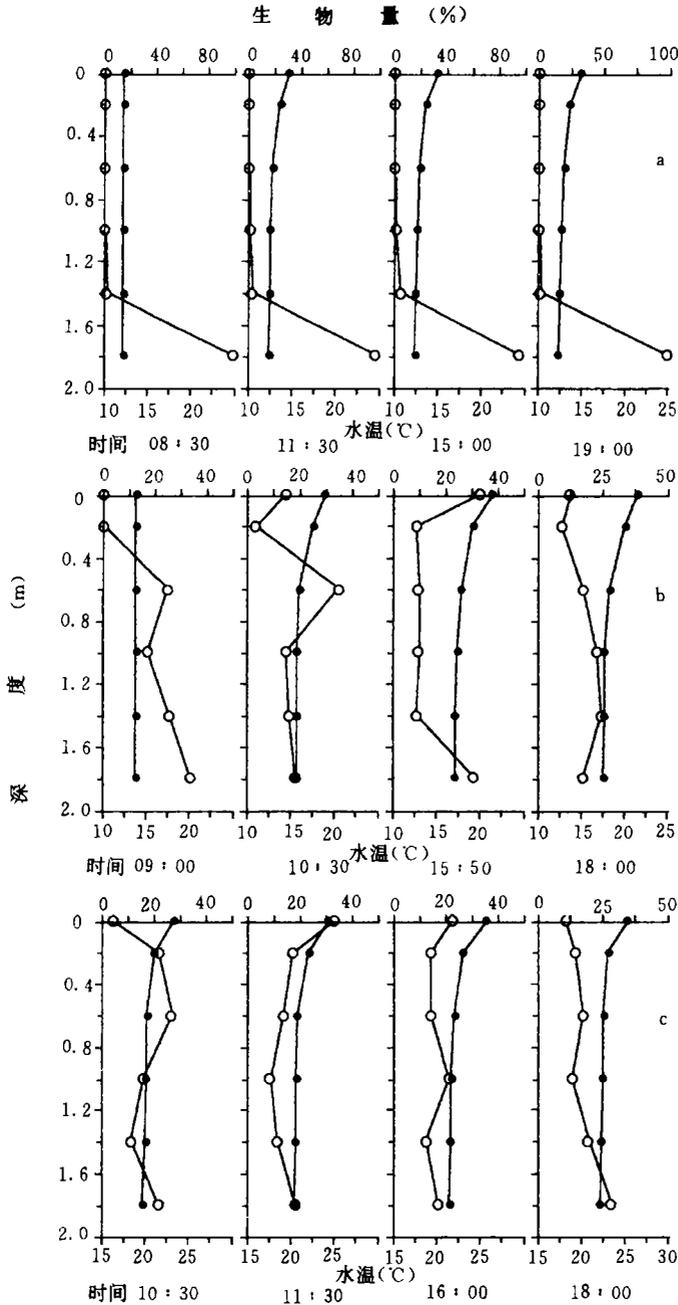


图 3 塔玛亚历山大藻的 48h 无光照 (a) 和连续光照 (b) 以及光节律改变实验

Fig. 3 Effects of continuous 48h darkness (a) and continuous light (b) and change of light-dark rhythm on diurnal vertical migration of *Alexandrium tamarense*

12.2—12.4℃。虽然水柱表面的水温最高可达 14.9℃，但 1.0m 以深水柱的水温却一直未超过 12.5℃，塔玛亚历山大藻群体终日密集在底层，未见任何节律性的垂直迁移。图 4b 实验的室温为 13—17℃，光照开始时水柱温度为 13.8℃，这时部分细胞已向上迁移，并在 0.6m 处形成一个峰值。10:30 水柱表面温度升至 18.8℃，表面至 0.6m 处形成一约为 3℃ 的温跃层，大部分细胞已经上移到上层，并在 0.6m 处形成细胞最大分布区。其间，平均上移速度



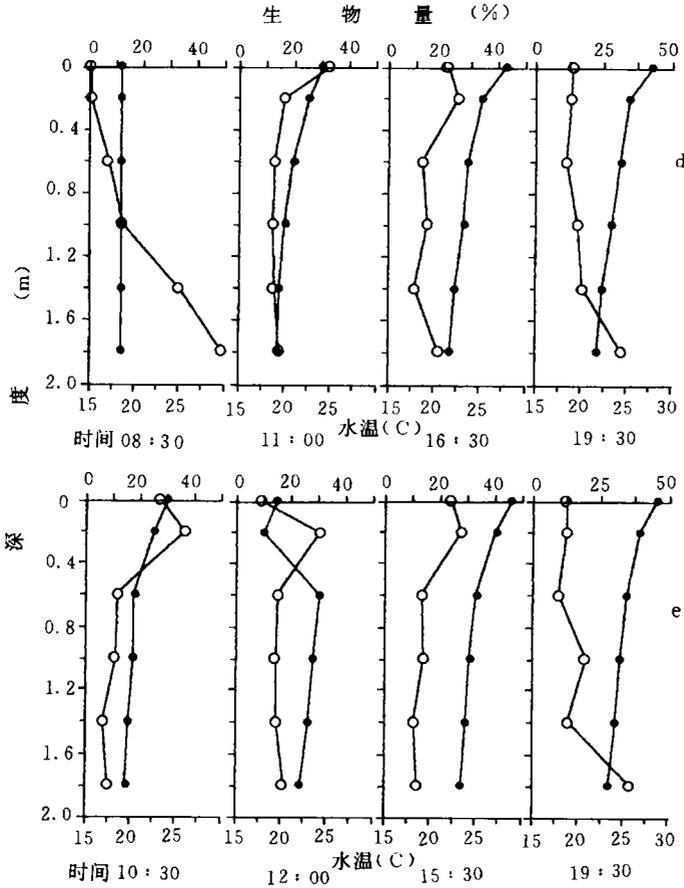


图 4 不同温度梯度对塔玛亚历山大藻昼夜垂直迁移的影响

Fig.4 Effects of different temperature gradients on diurnal vertical migration of *Alexandrium tamarense*

●表示水温; ○表示塔玛亚历山大藻生物量的百分比。

为 0.47m / h。图 4c 实验的室温为 18—22℃, 10:30 水柱表面至 0.6m 处的温差也是 3℃ 左右。虽然细胞的最大分布区在 0.6m 处, 但到达 0.2m 处的细胞百分数明显要比图 4b 的大得多。11:30 表面至 0.6m 处的温差虽然约为 3.6℃, 但未能阻止大多数细胞上升至表面, 并在表面形成最大分布区。图 4d 实验的室温也是 18—22℃, 光照开始时水柱温度为 18.5℃, 11:00 表面温度升至 24.0℃, 表面至 0.6m 的温差约为 2.9℃, 大部分细胞已迁入表层, 并在表面形成最大分布。其间, 平均上移速度为 0.72m / h。图 4e 实验的室温为 18—23℃, 光照开始前水柱温度也是 18.5℃, 10:30 表面温度升至 24.0℃, 表面至 0.6m 处的温差约为 3.5℃ (20.5—24.0℃), 大多数的细胞已上移至表层, 最大分布在 0.2m 处, 平均上移速度为 0.80m / h。12:00 表面至 0.6m 处的温差扩大到 5.1℃ (24.4—29.5℃), 最大分布仍然在 0.2m 处, 但表面细胞的百分数却由 10:30 的 27.2% 降至 8.8%。此后, 采用通风降温方法, 使表面温度变升为降, 15:30 的表面温度降至 28.7℃。细胞的百分数也升至 23.7%。

2.1.4 逐渐缺氮 实验时水柱温度为 21.0—23.6℃, 富氮 (148.8μmol / L) 条件下, 细胞

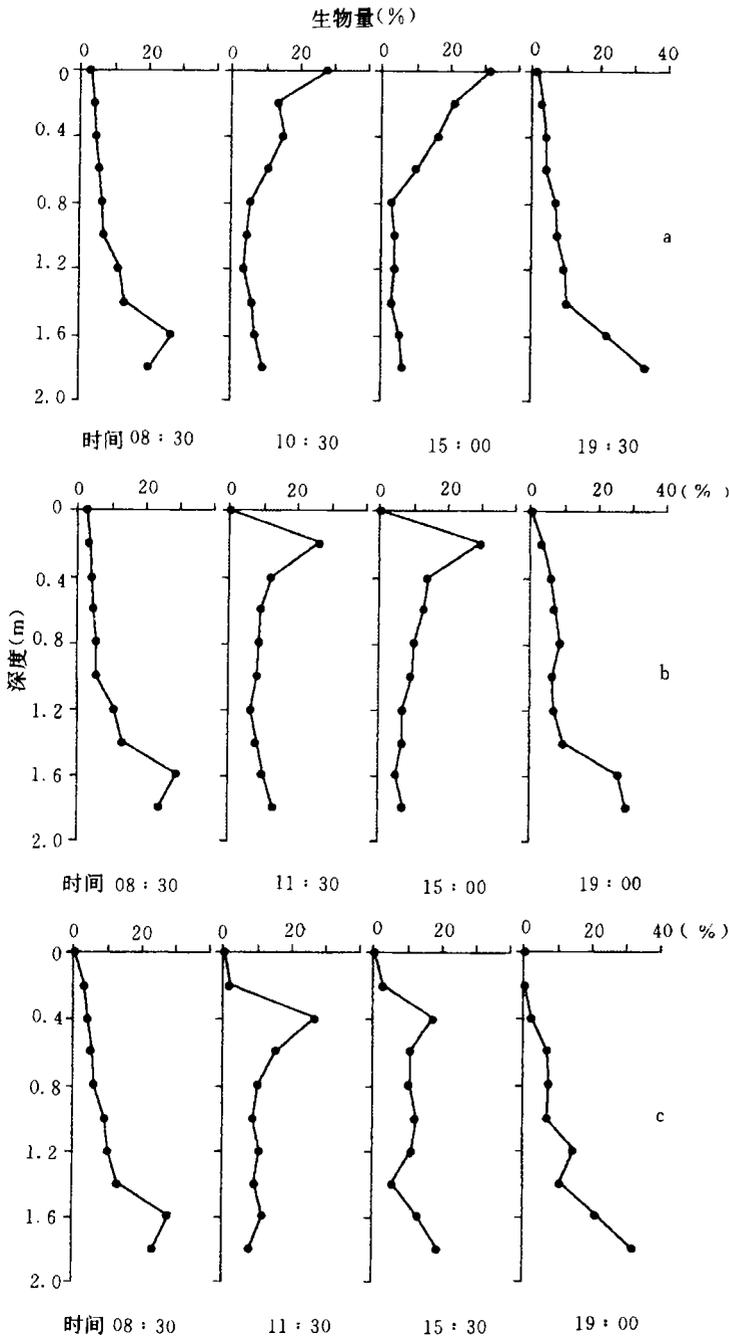


图5 缺氮对塔玛亚历山大藻昼夜垂直迁移的影响

Fig.5 Effects of insufficient nitrogen supply on diurnal vertical migration of *Alexandrium tamarens*

a 为富氮 (148.8 $\mu\text{mol/L}$) 条件下的细胞垂直分布; b 为缺氮 (5.6 $\mu\text{mol/L}$) 条件下的细胞分布; c 为缺氮条件下并用 1000W 光源照射下的细胞分布。

在 10:30 已于水柱表面形成最大分布, 平均上移速度达 1.20 m/h (图 5a, b)。缺氮 (5.6 $\mu\text{mol/L}$) 条件下, 昼夜垂直迁移依然明显, 但实验开始后的第 2 天, 光照期细胞的最大分布始终只能上移至 0.2 m 处, 而表面细胞密度几乎为零。其间, 平均上移速度为 0.70 m/h, 而且光照结束时峰值已在底层。第 3 天改用 1000W 光源后, 光照期细胞的最大分布降至 0.4 m 处, 其表层温度为 22—26.6 $^{\circ}\text{C}$, 平均上移速度只有 0.6 m/h, 而且在光照期结束前 2.5 h 就已向下迁移, 光照结束时细胞最大分布已在底部, 提前下移倾向非常明显 (图 5c)。

2.2 讨论

塔玛亚历山大藻的趋光性十分明显, 无论光源是置于水柱的上方、近底部或上方和近底部同时设置光源, 其细胞都能在 3 h 以内聚集于光照区。塔玛亚历山大藻昼夜垂直迁移的规律是光照开始后立即向上迁移, 一般于 2 h 以内在 水柱表层形成显著的细胞密集区, 而向下迁移则于光照结束前

2h左右开始,直至光照结束后1h左右才在底部形成细胞的最大分布,而且在3 200—42 000lx的各种光照下,这种规律性的昼夜垂直迁移都非常明显。但当光周期由L:D = 12:12h变为连续光照或无光照的第2或第3天后,这种规律性的昼夜垂直迁移即完全消失,细胞几乎呈均一分布。这些事实说明趋光性反应是塔玛亚历山大藻昼夜垂直迁移形成和维持的重要机制(Blasco, 1978; Eppley et al., 1968; Holmes et al., 1967)。相比之下,*A. lusitanicum*的趋光性反应要比塔玛亚历山大藻弱得多,其在全黑暗5—7d后仍能继续进行垂直迁移(周名江等,1994)。

当光照期从8:00—20:00变为9:00—17:00后的第3天,塔玛亚历山大藻的向上迁移仍发生在8:00左右,即光照开始前1h。这说明细胞内在的生理节律对其昼夜垂直迁移行为也有一定的调控作用。从其向下迁移总是于光照结束前2h左右开始也可看出这种节律性迁移不能单纯地只用趋光性来解释(周名江等,1994; Cullen et al., 1981; Takahashi et al., 1989)。

本实验结果表明,塔玛亚历山大藻能否进行有效的垂直迁移明显取决于其所处水体温度的绝对值,而且其速度与水温绝对值及温度梯度的大小密切相关。图4表明,周围水温在12.5℃以下时,塔玛亚历山大藻能继续生存,但垂直迁移行为完全丧失,当水温升至13.8℃后,节律性的昼夜垂直迁移又重新出现。室内生理特性实验显示香港株的塔玛亚历山大藻的极限耐受温域约为10—29℃,生存可能的温度范围在11—28℃之间,而最适生长温度是20—24℃¹⁾。由此可见,12.5℃以下的温度已接近其生存可能的低温极限。在这种状况下,细胞即使能继续存活,生理活性必然很低,垂直迁移行为的丧失就不难理解了。但垂直迁移的最低温度阈值到底是多少,尚有待深入研究。

在整个实验中,塔玛亚历山大藻向上迁移的最高速度是1.20m/h(图5a),此时水温范围为21.0—23.6℃,完全在其生长的最适温度范围,换算成温度梯度为1.3℃/m,此温度范围的下迁速度为0.60—0.70m/h。水温范围为21.0—24.0℃(图2),温度梯度为3℃/m时,细胞的向上迁移速度为1.03—1.09m/h,下迁速度为0.50—0.55m/h。水温变化范围扩大到18.5—24.0℃(图4d,e),温度梯度为2.6℃/m时,细胞的向上迁移速度为0.72—0.80m/h,下迁速度约为0.50m/h。当水温为13.8—18.8℃(图4b),温度梯度也为2.6℃/m时,向上迁移速度下降约为0.47m/h,下迁速度只有0.30m/h。这些事实表明水体温度越接近其生长的最适温度或垂直温度梯度越小,塔玛亚历山大藻向上迁移速度越快。塔玛亚历山大藻向下迁移的速度总体上要比向上迁移速度慢,但其与水温的关系和上移的是大致一样的。这种泳速随环境温度状况的不同而变化,显然是与细胞的生理活性密切相关(Kamykowski, 1981)。

缺氮对塔玛亚历山大藻的垂直迁移的影响是非常明显的,细胞不但无法到达水柱表面,而且向上迁移速度减弱,提前下移倾向明显。氮作为浮游植物的重要营养盐,缺乏时必然影响到细胞的生理状况,从而造成泳速和对强光耐受力的下降。Cullen等(1981)和Heaney等(1981)也发现藻类在缺氮条件下具有避开表面强光而聚集于亚表层的行为。至于提前下移应与渦鞭毛藻昼夜垂直迁移的生态意义有关。换句话说,在营养盐缺乏时到

1) 郑磊等,1997,有毒赤潮甲藻塔玛亚历山大藻孢囊生理特征研究。(印刷中)

底层吸取营养也许要比在表层获得光能更为重要。Huang 等(1993)发现昼夜垂直移动行为为非常显著的浮游桡足类中华哲水蚤 (*Calanus sinicus*) 在夏季水域叶绿素浓度很低的时候, 终日停留在底层。因为此时避开表层的捕食者比到表层去摄食对于种群的维持意义更为重要。

4 结语

本实验结果表明, 塔玛亚历山大藻具有显著的昼夜垂直迁移行为特性, 其垂直迁移的调控机制以趋光性为主, 但生物学节律可能也起着一定的作用。该藻在人工培养柱中的上迁速度最高可达 1.20m/h, 而下迁速度最高只有 0.70m/h。当水柱温度范围越接近其生长的最适温度或垂直温度梯度越小, 塔玛亚历山大藻的垂直迁移速度越快。在 12.5℃ 以下, 该藻完全丧失垂直迁移的能力, 而缺氮条件则使其垂直迁移能力减弱。这些事实表明, 理化环境和塔玛亚历山大藻自身的生理状态对其垂直迁移行为具有明显的影响。

参 考 文 献

- 齐雨藻等, 1997, 海洋与湖沼, **28** (2): 113—120.
- 周名江等, 1994, 海洋与湖沼, **25** (2): 173—178.
- Anderson, D. M. et al., 1983, *Mar. Biol.*, **76**: 179—189.
- Anderson, D. M., 1994, *Sci. Amer.*, **27** (2): 52—58.
- Blasco, D., 1978, *Mar. Biol.*, **46**: 41—47.
- Cullen, J. and Horrigan, D. G., 1981, *Mar. Biol.*, **62**: 81—89.
- Eppley, R. W. et al., 1968, *Jpn. J. Phycol.*, **4**: 333—340.
- Heaney, S. I. and Eppley, R. W., 1981, *J. Plankton Res.*, **3** (2): 331—334.
- Holmes, R. W. et al., 1967, *Limnol. Oceanogr.*, **12**: 503—512.
- Huang, C. et al., 1993, *Mar. Biol.*, **117**: 289—299.
- Kamykowski, D., 1981, *Mar. Biol.*, **62**: 57—64.
- Kamykowski, D. and Zentara, S. J., 1976, *Limnol. Oceanogr.*, **22**: 148—151.
- MacIsaac, J. J., 1978, *Limnol. Oceanogr.*, **23**: 1—9.
- Takahashi, M. and Hara, Y., 1989, *Red Tides: Biology, Environmental Science and Toxicology*, Elsevier (New York), pp. 265—268.

LABORATORY STUDY ON THE DIURNAL VERTICAL MIGRATION OF A POISONOUS RED-TIDE DINOFLAGELLATE *ALEXANDRIUM TAMARENSE*

Qi Yuzao, Huang Changjiang, Zhong Yan, Zheng Lei

(Institute of Hydrobiology, Jinan University, Guangzhou 510632)

Abstract The diurnal vertical migration (DVM) of a poisonous red tide dinoflagellate *Alexandrium tamarense* isolated from Hong Kong waters was studied from Sept., 1994 to April, 1995 in laboratory culture tubes (glass: 4 × 100cm and 4 ×

195cm; plastic: 10.6 × 200cm). In any experiment, *A. tamarense* was always kept at density of about 1 000cell / ml, and pre-cultured in the experimental culture tube for at least 48h. The present study involved four experiments. The first was a phototaxis experiment, wherein the vertical distributions of *A. tamarense* were investigated under different light conditions by varying the distance of the light source to the water surface. The second experiment addressed the *A. tamarense* vertical distribution during continuous 48h of darkness and of light. The third experiment was done in temperature of 12.2—14.9, 13.7—21.4, 18.0—25.6, 18.1—27.8 and 18.1—29.5°C. The last experiment was done under conditions of nitrate enrichment (148.8μmol / L) or deficiency (5.6μmol / L).

The results showed that *A. tamarense* exhibited strong phototaxis and clear diurnal vertical migration. The general pattern of DVM was that the cells started to migrate up just after light on and finished downward migration from ca. 2h before light off to ca. 1h after light off. The diurnal vertical migration, however, completely ceased from the second or third day under continuous dark or light conditions. There was significant relationship between water temperature and the DVM speed of *A. tamarense*. The diurnal vertical migration was remarkably accelerated when the water temperature was near its optimum growth temperature range(20.0—24.0°C) or when the temperature gradient throughout the water column was small, and ceased when the temperature was below 12.5°C. The upward DVM speed of *A. tamarense* was generally faster than the downward speed. In its optimum growth temperature range, the highest upward speed was 1.20m / h, but the highest downward speed was only 0.70m / h. With insufficient nitrogen supply (5.6μmol / L), *A. tamarense* greatly decreased its DVM speed, swarmed in the subsurface during light-time and tended to migrate downwards earlier than usual.

These findings suggest that the DVM behavior of this alga is strongly controlled by phototaxis, but that the biological clock rhythm might have certain effects on it. When the water temperature drops within its optimum growth temperature range, the DVM speed of *A. tamarense* is the fastest. However, the physiological state of *A. tamarense* may affect its behavior and DVM speed.

Key words Red-tide Dinoflagellate *Alexandrium tamarense* Diurnal vertical migration