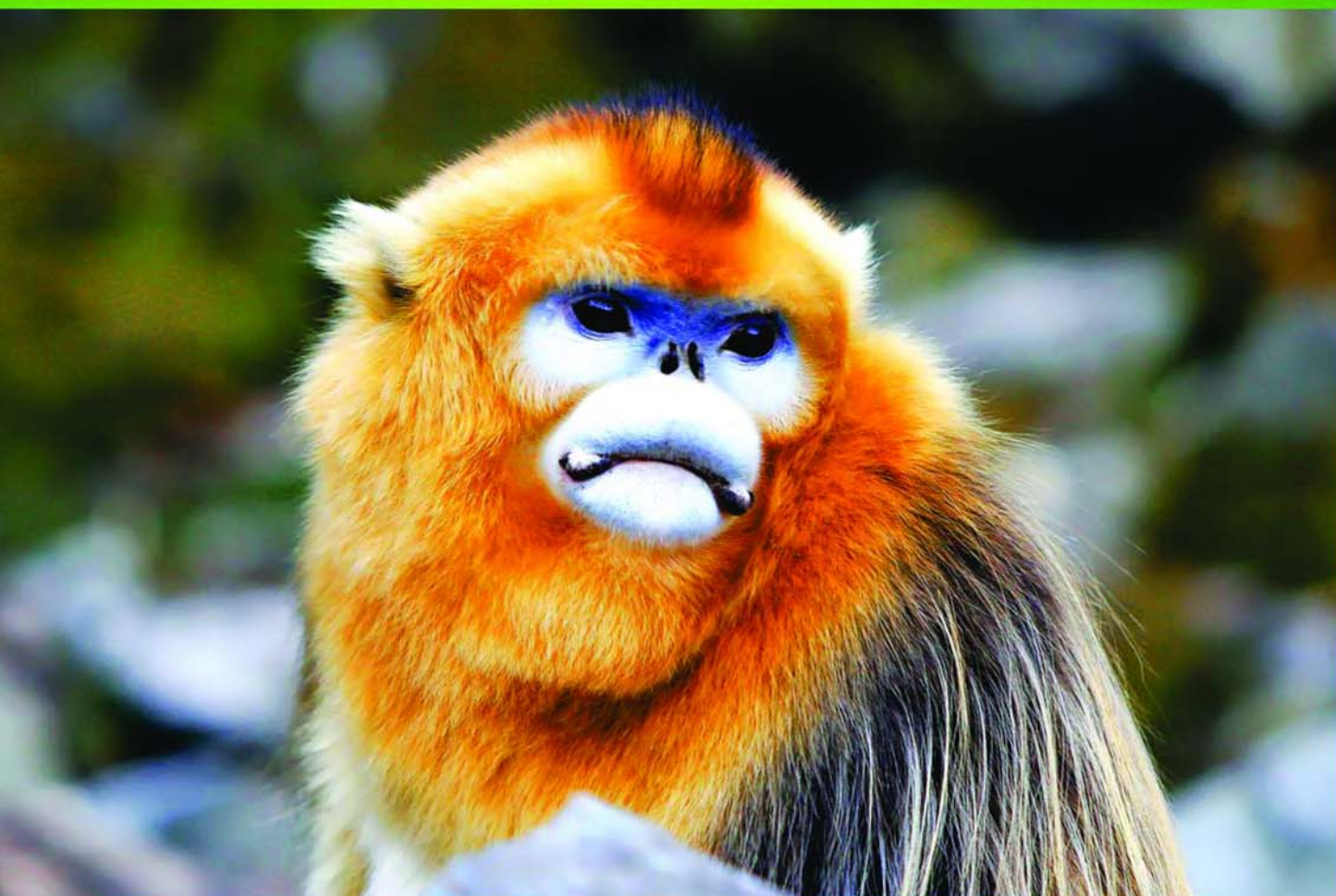


ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

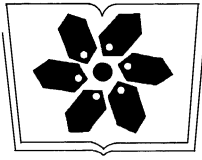
Acta Ecologica Sinica



第32卷 第2期 Vol.32 No.2 **2012**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 32 卷 第 2 期

2012 年 1 月 (半月刊)

目 次

北部湾秋季底层鱼类多样性和优势种数量的变动趋势	王雪辉,邱永松,杜飞雁,等 (333)
中国大陆鸟类和兽类物种多样性的空间变异	丁晶晶,刘定震,李春旺,等 (343)
粉蝶盘绒茧蜂中国和荷兰种群学习行为及 EAG 反应的比较	王国红,刘 勇,戈 峰,等 (351)
君主绢蝶的生物学及生境需求	方健惠,骆有庆,牛 犇,等 (361)
西南大西洋阿根廷滑柔鱼生物学年间比较	方 舟,陆化杰,陈新军,等 (371)
城市溪流中径流式低坝对底栖动物群落结构的影响	韩鸣花,海燕,周 斌,等 (380)
沉积再悬浮颗粒物对马氏珠母贝摄食生理影响的室内模拟	栗志民,申玉春,余南涛,等 (386)
太平洋中西部海域浮游植物营养盐的潜在限制	徐燕青,陈建芳,高生泉,等 (394)
几株赤潮甲藻的摄食能力	张清春,于仁成,宋静静,等 (402)
高摄食压力下球形棕囊藻凝聚体的形成	王小冬,王 艳 (414)
大型绿藻浒苔藻段及组织块的生长和发育特征	张必新,王建柱,王乙富,等 (421)
链状亚历山大藻生长衰亡相关基因的筛选	仲 洁,隋正红,王春燕,等 (431)
太湖春季水体固有光学特性及其对遥感反射率变化的影响	刘忠华,李云梅,吕 恒,等 (438)
程海富营养化机理的神经网络模拟及响应情景分析	邹 锐,董云仙,张祯祯,等 (448)
沙质海岸灌化黑松对蛀食胁迫的补偿性响应	周 振,李传荣,许景伟,等 (457)
泽陆蛙和饰纹蛙蝌蚪不同热驯化下选择体温和热耐受性	施林强,赵丽华,马小浩,等 (465)
麦蚜和寄生蜂对农业景观格局的响应及其关键景观因子分析	赵紫华,王 颖,贺达汉,等 (472)
镉胁迫对芥蓝根系质膜过氧化及 ATPase 活性的影响	郑爱珍 (483)
生姜水浸液对生姜幼苗根际土壤酶活性、微生物群落结构及土壤养分的影响	韩春梅,李春龙,叶少平,等 (489)
九州虫草菌丝体对 Mn 的耐性及富集	罗 毅,程显好,张聪聪,等 (499)
土霉素暴露对小麦根际抗生素抗性细菌及土壤酶活性的影响	张 昊,张利兰,王 佳,等 (508)
氮沉降对杉木人工林土壤有机碳矿化和土壤酶活性的影响	沈芳芳,袁颖红,樊后保,等 (517)
火炬树雌雄母株克隆生长差异及其光合荧光日变化	张明如,温国胜,张 瑾,等 (528)
湖南乌云界自然保护区典型生态系统的土壤持水性能	潘春翔,李裕元,彭 亿,等 (538)
祁连山东段高寒地区土地利用方式对土壤性状的影响	赵锦梅,张德罡,刘长仲,等 (548)
沙质草地生境中大型土壤动物对土地沙漠化的响应	刘任涛,赵哈林 (557)
腾格里沙漠东南缘可培养微生物群落数量与结构特征	张 威,章高森,刘光琇,等 (567)
塔克拉玛干沙漠南缘玉米对不同荒漠化环境的生理生态响应	李 磊,李向义,林丽莎,等 (578)
内蒙古锡林河流域羊草草原 15 种植物热值特征	高 凯,谢中兵,徐苏铁,等 (588)
不同密度条件下芨芨草空间格局对环境胁迫的响应	张明娟,刘茂松,徐 驰,等 (595)
环境因子对巴山冷杉-糙皮桦混交林物种分布及多样性的影响	任学敏,杨改河,王得祥,等 (605)
海藻酸铈配合物对毒死蜱胁迫下菠菜叶片抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响	栾 霞,陈振德,汪东风,等 (614)
城市化进程中城市热岛景观格局演变的时空特征——以厦门市为例	黄聚聪,赵小锋,唐立娜,等 (622)
基于遥感和 GIS 的川西绿被时空变化研究	杨存建,赵梓健,任小兰,等 (632)
亚热带城乡复合系统 BVOC 排放清单——以台州地区为例	常 杰,任 远,史 琰,等 (641)
研究简报	
不同水分条件下毛果苔草枯落物分解及营养动态	侯翠翠,宋长春,李英臣,等 (650)
大山雀对巢箱颜色的识别和繁殖功效	张克勤,邓秋香,Justin Liu,等 (659)
期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 330 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 37 * 2012-01	



封面图说: 雄视——中国的金丝猴有川、黔、滇金丝猴三种,此外还有越南和缅甸金丝猴两种。金丝猴是典型的森林树栖动物,常年栖居于海拔 1500—3300m 的亚热带山地、亚高山针叶林、针阔叶混交林,常绿落叶阔叶混交林中,随着季节的变化,只在栖息的生境中作垂直移动。川金丝猴身上长有柔软金色长毛,十分漂亮。个体大,嘴角处有瘤状突起的是雄性金丝猴的特征。川金丝猴只分布在中国的四川、甘肃、陕西和湖北省。属国家一级重点保护、CITES 附录一物种。

彩图提供: 陈建伟教授 国家林业局 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201012151789

张清春, 于仁成, 宋静静, 颜天, 王云峰, 周名江. 几株赤潮甲藻的摄食能力. 生态学报, 2012, 32(2): 0402-0413.

Zhang Q C, Yu R C, Song J J, Yan T, Wang Y F, Zhou M J. Ingestion of selected HAB-forming dinoflagellates. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(2): 0402-0413.

几株赤潮甲藻的摄食能力

张清春^{1,2,*}, 于仁成¹, 宋静静^{1,2}, 颜 天¹, 王云峰¹, 周名江¹

(1. 中国科学院海洋研究所, 海洋生态与环境科学重点实验室, 青岛 266071; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 采用荧光标记的方法, 在营养盐限制条件下, 对 6 株赤潮甲藻对荧光标记的海洋细菌 (FLB)、金藻 (FLA) 和两种粒径分别为 0.5 μm 和 2.0 μm 的荧光微球 (FM0.5 和 FM2.0) 4 种摄食对象的摄食进行了比较研究。研究结果表明, 除了东海原甲藻对 4 种摄食对象均没有摄食外, 其它 5 株甲藻, 微小亚历山大藻、链状亚历山大藻、塔玛亚历山大藻、海洋原甲藻和微小原甲藻均具有摄食能力, 但对摄食对象的选择和摄食率有差异, 多数摄食率是在 4 h 达到最大, 白天的摄食能力强于夜间。研究说明了在营养盐限制环境中, 有些具有兼性营养能力的甲藻对细菌和/或更小浮游植物的摄食能力可能对维持和促进其生长具有不可忽视的作用。

关键词: 东海原甲藻; 微小亚历山大藻; 链状亚历山大藻; 塔玛亚历山大藻; 海洋原甲藻; 微小原甲藻; 海洋细菌; 金藻; 荧光微球; 摄食

Ingestion of selected HAB-forming dinoflagellates

ZHANG Qingchun^{1,2,*}, YU Rencheng¹, SONG Jingjing^{1,2}, YAN Tian¹, WANG Yunfeng¹, ZHOU Mingjiang¹

¹ Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China

² Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: The ingestion behavior of six dinoflagellate species isolated from the Chinese and Korean coasts was evaluated in this paper. These six species include *Prorocentrum donghaiense*, *P. micans*, *P. minimum*, *Alexandrium minutum*, *A. catenella*, and *A. tamarense*, which often contribute to the formation of harmful algal blooms (HABs). They were cultured under either 45 or 8 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ light intensities, in nutrient-depleted culture medium containing different particles, such as fluorescently labeled dead marine bacteria (FLB), the dead marine micro-flagellate *Isochrysis galbana* (FLA), and the fluorescent microspheres of two sizes (FM0.5 and FM2.0, sphere diameter 0.5 and 2.0 μm), respectively. The ingestion activities were quantified by calculating the percentage of dinoflagellates that ingested either FLB, FLA, FM0.5, or FM2.0, based on the observation of 100 dinoflagellate cells in each group. In our experiment, the ingestion behaviors were observed in *A. minutum*, *A. catenella*, *A. tamarense*, *P. micans*, and *P. minimum*. And they all showed great different efficiency in choosing different particle to ingest. For example, *A. minutum* could ingest both FM0.5 and FLA, though a higher percentage of individuals exhibited ingestion behavior under 45 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ light intensity (15%) than under 8 $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ (2%). Similarly, *A. catenella* ingested FLB, FM0.5, and FLA (5.5%, 7.5%, and 6% individuals of the total population to ingest, respectively) under both light intensities. *A. tamarense* was able to ingest only FLB and FM0.5 under the low light intensity (7% and 9% of individuals, respectively). *P. micans* ingested FLB, FM0.5, and FLA (12.5%, 15.5%, and 4.5% of individuals, respectively) under both light intensities. A low percentage (9%) of *P. minimum*

基金项目: 国家自然科学基金项目 (40606029); 国家重点基础研究发展计划项目 (973 项目) (2010CB428705); 国家基金委创新研究群体科学基金项目 (40821004)

收稿日期: 2010-12-15; **修订日期:** 2011-05-17

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: qczhang@qdio.ac.cn

individuals ingested FM0.5, and we observed ingestion under both light intensities. At the same time, it is found that the ingestion behavior showed a peak at 4 h after the ingestion objects were introduced to the medium, and it occurred primarily during the daytime. To our knowledge, this is the first report about the ingestion of *I. galbana* by *A. minutum* and both *I. galbana* and marine bacteria by *A. catenella*. The percentage of individuals exhibiting ingestion behavior was generally lower at the low light intensity ($8 \mu\text{Em}^{-2} \text{s}^{-1}$) than the high light intensity ($45 \mu\text{Em}^{-2} \text{s}^{-1}$). Our results showed that ingestion ability was controlled/regulated by inorganic nutrient concentration, not by organic carbon. Given the variability in ingestion behavior, the environmental factors regulating ingestion likely differ among the dinoflagellate species. In this paper, the ingestion ratios on FLA were low. Because the fluorescently labeled *I. galbana* was motionless (dead), which may have affected recognition by the dinoflagellates, thus reducing the rate of ingestion. We evaluated the use of fluorescent microspheres as the proxies for live cells (e. g., bacteria and micro-flagellates) when studying phagotrophy among dinoflagellates. Given the variability in rates of consumption, our results suggest that fluorescent microspheres are not a suitable replacement for live cells. Interestingly, we demonstrated that these dinoflagellates, which have generally been considered to be autotrophic, have the ability to ingest other cells suggesting they should be classified as mixotrophic. Thus, it was hypothesized that these dinoflagellate species have an effect on the abundance of bacteria or/and smaller phytoplankton in natural ecosystems. In conclusion, the ingestion ability of dinoflagellates likely plays an important role in the formation and maintenance of HABs. Through this study, a new scientific perspective is provided for the formation mechanism of HABs.

Key Words: *Alexandrium minutum*; *Alexandrium catenella*; *Alexandrium tamarense*; *Prorocentrum micans*; *Prorocentrum donghaiense*; *Prorocentrum minimum*; marine bacteria; *Isochrysis galbana*; fluorescent microsphere; ingestion

随着海洋污染和富营养化的加剧,世界范围内有害赤潮爆发的频率和规模都在加大,这种现象越来越引人关注。以往的研究通常将这一现象归因于富营养化,但是近年来一些以往认为是营光合自养的赤潮甲藻被发现具有吞噬细菌和微藻的能力,应当是兼性营养型甲藻,其中包括原甲藻目、裸甲藻目、膝沟藻目和多甲藻目中常见的赤潮甲藻^[1-3]。研究发现,兼性营养型甲藻可以通过摄食细菌或微藻来促进自身生长^[4-13]。一些学者认为,这些赤潮藻可以通过摄食其营养竞争者甚至潜在的捕食者来促使其自身形成高生物量的赤潮^[14-15]。这些研究改变了人们对甲藻赤潮爆发机制的认识。

近年来,我国近海海域的甲藻赤潮呈现出频率加剧、规模扩大的趋势^[16],这与我国近海的营养盐含量、组成以及气候等变化密切相关。另外,甲藻自身的一些生物学特征在其赤潮的爆发与维持中起到了不可忽视的作用,如运动能力、利用溶解态有机物质(DOM)的能力等。具体来说,甲藻可以通过昼夜垂直迁移获得较深层水体的营养盐,在水平方向上也可以在一定范围内向营养盐水平更高的水体迁移。而在溶解态无机磷(DIP)限制的条件下,一些以往认为是光合自养型甲藻可以通过分泌磷酸酶来水解水体中的溶解态有机磷化合物(DOP)释放无机磷促进其生长。在溶解态无机氮(DIN)限制的条件下,很多甲藻都可以利用尿素等溶解态有机氮物质(DON)。目前对甲藻的垂直迁移能力和利用有机态营养盐的能力在其赤潮形成中的作用认识较为清楚,但对摄食能力在其赤潮形成中的作用认识并不清楚。为此,选择了多株分离自我国近海或邻近国家海域,以往认为是光合自养型的常见赤潮甲藻,对其摄食能力以及相关环境因子进行初步研究,力求验证这些甲藻是否具有摄食能力,为进一步阐明甲藻赤潮的形成机制提供新的科学数据。

1 材料与方法

1.1 实验藻种培养

选用6株甲藻作为研究对象,分别是东海原甲藻 *Prorocentrum donghaiense* PDDH 株、海洋原甲藻 *P. micans* PM 株、微小原甲藻 *P. minimum* Pmini-K 株、塔玛亚历山大藻 *Alexandrium tamarense* ATHK 株、链状亚历山大藻 *A. catenella* ACDH 株和微小亚历山大藻 *A. minutum* AM 株。1株等鞭金藻 *Isochrysis galbana* IG311 株

作为摄食对象。所有藻株均在中国科学院海洋研究所海洋生态与环境科学重点实验室内保种培养。藻株的产地及藻细胞大小等数据见表 1。

表 1 藻株的产地及藻细胞大小
Table 1 The original places of algae and their sizes

藻种 Algal species	藻种分离地 Original place	藻细胞大小 Cell size	
		长度 Length/ μm	直径 Diameter/ μm
东海原甲藻 PDDH 株	中国东海	16.1 $\pm$ 1.8	8.2 $\pm$ 0.7
海洋原甲藻 PM 株	中国南海	38.6 $\pm$ 3.6	32.9 $\pm$ 3.2
微小原甲藻 Pmini-K 株	韩国海域	16.9 $\pm$ 0.8	12.8 $\pm$ 1.5
塔玛亚历山大藻 ATHK 株	中国南海	33.5 $\pm$ 2.0	29.8 $\pm$ 2.0
链状亚历山大藻 ACDH 株	中国东海	25.6 $\pm$ 2.4	25.8 $\pm$ 2.2
微小亚历山大藻 AM 株	中国台湾	25.1 $\pm$ 1.9	20.7 $\pm$ 2.6
等鞭金藻 IG311 株	中国海域	4.9 $\pm$ 0.5	4.9 $\pm$ 0.5

藻类的培养液选用改良的 f/2-Si 培养液(不添加 Na_2SiO_3),培养用海水为取自青岛汇泉湾附近的自然海水,pH 值为 7.9 $\pm$ 0.1,盐度是 30 $\pm$ 1,经孔径 0.45 μm 的混合纤维滤膜过滤,煮沸后室温冷却,添加营养盐备用。6 株藻类培养温度为(20 $\pm$ 1) $^{\circ}\text{C}$,光照为 45 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$,光暗比 L:D=14 h:10 h,即 6:00 起有光照至 8:00 停止光照。等鞭金藻 IG311 株光照为 70 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$,其余培养条件均与甲藻相同。

1.2 细菌的分离和鉴定

1.2.1 细菌的分离和培养

从处于指数生长期的 PDDH 和 ACDH 藻株培养液中分别取 1 mL 培养液,经无菌海水 100 倍稀释后取 0.2 mL 涂布改良的 ORI 琼脂培养基平板上,在 20 $^{\circ}\text{C}$ 的细菌培养箱中培养 4 d,分别挑 10 个单克隆菌落,命名为 P-1 至 P-10,A-1 至 A-10。然后接种于液体培养基中,在 20 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,220 rpm/min 的摇床上培养 4d。改良的 ORI 培养基配方如下:2g 蛋白胨、2g 细菌酵母粉、1g 植物蛋白胨、0.4g 硫代硫酸钠、1g 亚硫酸钠和 0.08g 柠檬酸钠溶解于 750 mL 的陈海水中,以蒸馏水补足 1000 mL,用稀 NaOH 溶液或 HCl 溶液调节 pH 值至 7.6,然后高温湿热灭菌,最后经 0.22 μm 滤膜过滤待用。固体培养基是用 15 g 琼脂溶解于 1000 mL 液体培养基后,经高温湿热灭菌待用。

1.2.2 细菌的鉴定

细菌 DNA 的提取采用 DNA 提取试剂盒(上海生工),并经过 0.7% TAE 琼脂凝胶电泳鉴定所提取 DNA 的完整性。提取的 DNA 保存于-20 $^{\circ}\text{C}$ 待 PCR 扩增所用。采用细菌 16S rDNA 扩增常用的一对引物 27f (5'-AGAGTTTGTATCMTGGCTCAG-3') 和 1492r (5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3')^[17]。PCR 扩增的反应体系为 20 μL , 包含 2 μL 10 $\times$ PCR 缓冲液、1.6 μL 25 mmol/L MgCl_2 、1.6 μL 2.5 mmol/L dNTPs、0.4 μL 10 $\mu\text{mol/L}$ 引物、0.12 μL 5U/ μL Ta 聚合酶(大连 TakaRa)和 1 μL 细菌 DNA 模板溶液。PCR 扩增程序为:先 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min,接着进行 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 S、55 $^{\circ}\text{C}$ 30 S、72 $^{\circ}\text{C}$ 90 S 的循环 36 次,最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。电泳条带大约为 1500 bp,切胶,纯化,纯化后产物送赛诺基因公司测序。将测序后的序列利用 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)在线 BLAST 程序与 GenBank 中已有序列进行比对分析,完成细菌的初步分类。

1.3 甲藻对荧光标记细菌、金藻和荧光微球的摄食

1.3.1 细菌和金藻荧光标记

采用 5-(4,6-dichlorotriazin-2-yl) aminofluorescein (DTAF) 对细菌和金藻 IG 311 进行荧光标记。根据细菌序列比对结果,选择 A-1 和 P-1 细菌进行荧光标记。将培养的 150 mL 细菌 13500 rpm/min 离心 20 min 去上清;加上新的细菌培养液,重悬,再离心,重复 10—15 次,直到离心后细菌团直径有 3—5 mm 为止;用无菌海水清洗细菌团 3 次,同样按照离心、去上清、加新无菌海水、再离心的步骤进行;最后一次加入 10 mL 无菌海水重悬细菌,加入 2 mg DTAF,在 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 4 h,期间 DTAF 与细菌表面蛋白进行结合;加入 DTAF 后,每隔 30 min 旋涡 1 次,保证 DTAF 与细菌充分混合;水浴后离心,去上清,用无菌海水清洗 3—6 次,去除多余 DTAF,

直到离心后的上清液完全清亮,表明多余 DTAF 已彻底清除;最后定容为 20 mL,保存于-20 ℃,直到实验前溶解待用。金藻也采用相似的实验流程,但水浴温度升为 70 ℃。

1.3.2 甲藻对荧光标记细菌、金藻和荧光微球的摄食率

选择 4 种摄食对象,分别是荧光标记细菌 P-1 和 A-1 (FLB)、荧光标记金藻 IG 311 (FLA)、直径为 0.5 μmol/L 羧酸酯荧光微球 (FM0.5) 和直径为 2.0 μmol/L 羧酸酯荧光微球 (FM2.0) (荧光微球购置于美国 polysciences 公司)。

取指数中期的 AM、ACDH、ATHK、PM 按照终密度 5000 个/mL,PDDH 和 Pmini-K 按照终密度 20000 个/mL 分别接种于 3 L 未添加营养盐的过滤煮沸海水的锥形瓶中,每天用显微镜计数,了解藻的生长趋势。4 d 后,随着藻生长,藻培养液中的营养盐被藻消耗,将藻液按照 80 mL 每瓶小心分装到 100 mL 无菌锥形瓶中,共分装 24 瓶,分 2 组,每组 12 瓶,其中一组光照强度为 45 μE m⁻²s⁻¹,另一组光照强度为 8 μE m⁻²s⁻¹,其它实验条件相同。每组又分为 6 小组,分别作为阴性对照组,营养盐对照组和 4 个添加不同摄食对象的实验组,每小组 2 瓶藻,即为 2 个平行(以 AM 为例,表 2)。在 10:00 分别添加荧光标记的 FLB、FLA、FM0.5 和 FM2.0,其中 3 株原甲藻培养液中添加的 FLB 是荧光标记 P-1 细菌,而 3 株亚历山大藻中添加的 FLB 是荧光标记 A-1 细菌。

分别在加入摄食对象后 4、12、24、48 h 和 96 h 时取藻液 3 mL,用戊二醛固定(终体积分数浓度为 1.5%)。利用 6 μm 孔径滤膜过滤藻液中未被吞噬的 FLB、FM 和 FLA。操作步骤如下:将采样的 3 mL 藻液倒入 10 mL 型的滤器中,加入无菌海水 5 mL,然后低负压抽滤直到滤器中剩余液体为 3 mL,重新加入无菌海水 5 mL 再抽滤,重复此操作 6 次以上。期间用移液器不停吹击滤液,确保待除去的细菌、微球和金藻不会粘附到滤膜表面,最后定容为 5 mL,用荧光显微镜随机观察 100 个藻细胞。本文中将随机观察的 100 个藻细胞中有摄食对象的藻细胞比例定义为摄食率。每隔 1 d 取 0.5 mL 藻液在显微镜下观察藻细胞活力,确定添加的摄食对象是否会对藻生命造成不利影响。另外,每隔 2 d 取 0.5 mL 藻液用鲁哥氏碘液固定显微镜计数。

表 2 摄食实验设计			
Table 2 Setup of ingestion experiment			
组别编号 Group name	光照强度 Light density /(μEm ⁻² s ⁻¹)	摄食对象 Ingestion object	添加的浓度 Density
AM-0-H	45	不添加摄食对象和营养盐,作为阴性对照组	
AM-f/2-H	45	添加 f/2-Si,作为营养盐对照组	
AM-B-H	45	FLB	2×10 ⁷ 个/mL
AM-A-H	45	FLA	2×10 ⁵ 个/mL
AM-0.5-H	45	FM0.5	2×10 ⁷ 个/mL
AM-2.0-H	45	FM2.0	2×10 ⁵ 个/mL
AM-0-L	8	不添加摄食对象和营养盐,作为阴性对照组	
AM-f/2-L	8	添加 f/2-Si,作为营养盐对照组	
AM-B-L	8	FLB	2×10 ⁷ 个/mL
AM-A-L	8	FLA	2×10 ⁵ 个/mL
AM-0.5-L	8	FM0.5	2×10 ⁷ 个/mL
AM-2.0-L	8	FM2.0	2×10 ⁵ 个/mL

2 结果

2.1 细菌的分类鉴定

根据测序的 16S rDNA 扩增片段进行在线 BLAST 的结果,将 20 株细菌按照属名进行归类,见表 3 所示。其中从 ACDH 培养液中分离的 A1、A2、A9 和 PDDH 培养液中分离的 P1、P2、P3、P4、P6、P8 为海杆菌属细菌。另外,A2、A10、P7、P9 属于类单胞菌属,A5、A6、A7、A8、P10 属于红细菌属,而 A3 和 P5 细菌分别属于海旋菌和 α-变形菌属。根据分离细菌的种类,再结合从 1 株米氏凯伦藻培养液中随机分离的 10 株细菌均是海杆菌,可见,海杆菌可能是室内连续多代培养的甲藻培养液中的优势菌之一。因此,选择 A1 和 P1 细菌进行扩大培

养,荧光标记。

2.2 甲藻对 FLA、FLB 和 FM 的摄食

每隔 1 d 取 0.5 mL 藻液在显微镜观察藻细胞观察藻细胞的游动能力,通过观察发现,实验组的藻细胞运动能力与未添加营养盐的阴性对照组没有明显的区别,可初步判断添加的 FLB、FLA、FM0.5 和 FM2.0 对甲藻并没有造成明显的不利影响。从图 1A 可以看出,光照强度为 $45\text{ }\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 的 AM 在添加 f/2-Si 培养液后进入新的对数生长期,而光照强度为 $8\text{ }\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 的 AM 在添加 f/2-Si 培养液后没有明显

表 3 分离的细菌属名

Table 3 Generic name of isolated bacteria		
菌株	Bacterial species	属名 Generic name
A1、A4、A9、P1、P2、P3、P4、P6、P8		海杆菌
A2、A10、P7、P9		类单胞菌
A3		海旋菌
A5、A6、A7、A8、P10		红细菌
P5		α -变形菌

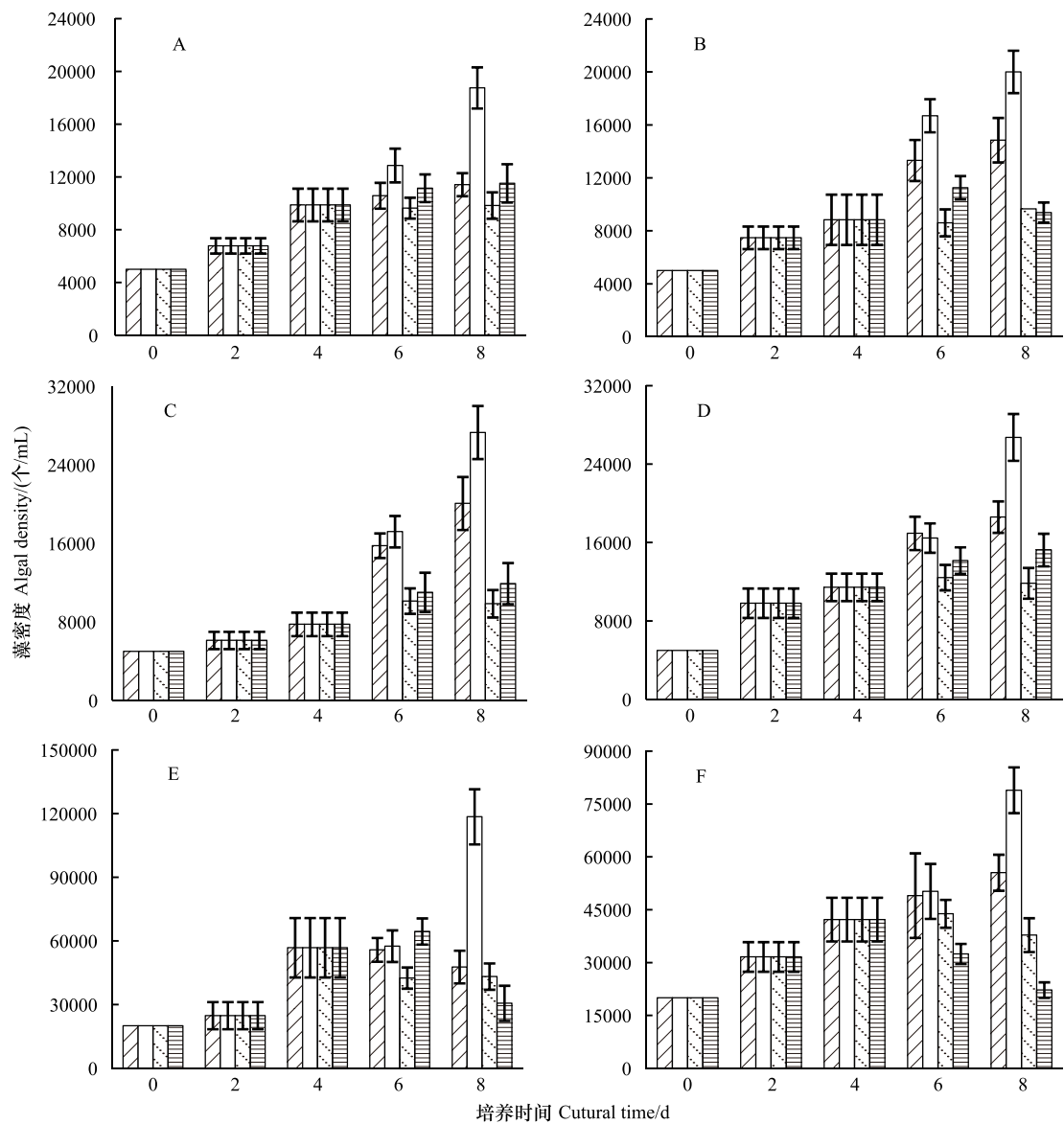


图 1 对照组的藻生长

Fig. 1 The growth of dinoflagellates in controlled groups

A: AM, B: ACDH, C: ATHK, D: PM, E: PDDH, F: Pmini-K; □为 0-H 组,光照强度为 $45\text{ }\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$,没有添加吞噬物和营养盐,作为阴性对照组; ▨为 f/2-H 组,光照强度为 $45\text{ }\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$,添加 f/2-Si 培养基,作为营养盐对照组; ▤为 0-L 组,光照强度为 $8\text{ }\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$,没有添加摄食对象物和营养盐,作为阴性对照组; ▩为 f/2-L 组,光照强度为 $8\text{ }\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$,添加 f/2-Si 培养基,作为营养盐对照组

生长,可见 $8 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 光照强度条件下培养 AM 藻处于光照限制状态。另外 $45 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 光照强度条件的阴性对照组 AM 藻也没有明显生长,说明 AM 处于营养盐限制状态。PDDH 与 AM 藻的情况类似(图 1E)。ACDH、ATHK、PM 和 Pmini-K 的情况类似,均是添加 f/2-Si 培养液,光照强度为 $45 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 的营养盐对照组中,实验组甲藻进入新的指数生长期;而 $8 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 营养盐对照组的实验组甲藻均没有生长,处于光照限制状态;而 $45 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 阴性对照组的藻有一定的生长,但生长速率低于同光照强度的营养盐对照组,说明这 4 株藻仅仅是受到一定程度的营养盐限制(图 1B, C, D, F)。从图 2 可以看出,各实验组的藻细胞密度均与对应的对照组相似,说明添加的摄食对象对这几株甲藻并没有造成明显的不利影响。

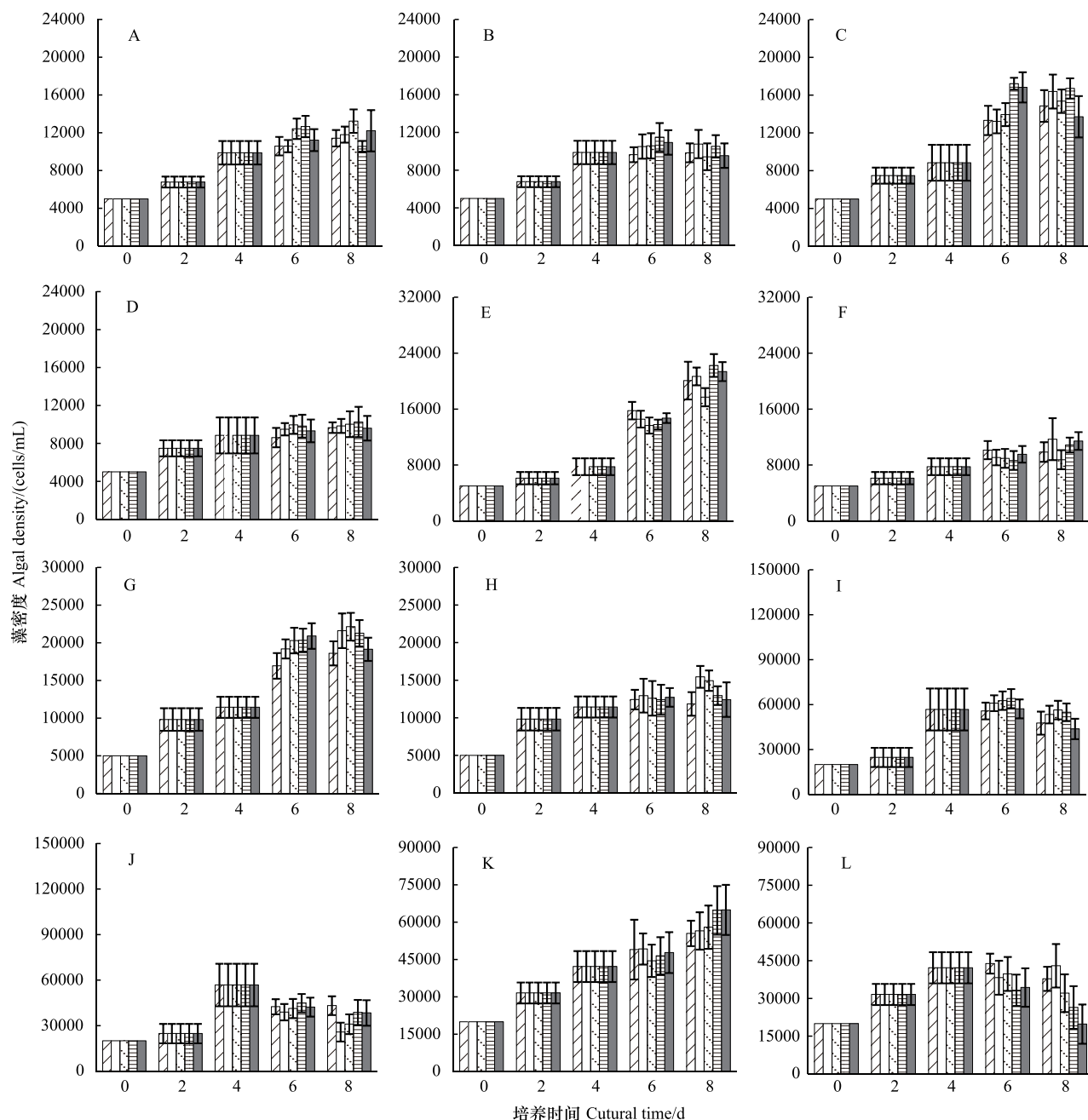


图2 实验组的藻生长

Fig.2 The growth of dinoflagellates in experimental groups

A, B: AM; C, D: ACDH, E, F: ATHK, G, H: PM; I, J: PDDH; K, L: Pmini-K; 其中 A, C, E, G, I, K 组的光照强度为 $45 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$, □ 为 0-H 组,没有添加摄食对象和营养盐,作为阴性对照组; □ 为 B-H 组,添加 FLB; □ 为 0.5-H 组,添加 FM0.5; □ 为 A-H 组,添加 FLA; □ 为 2.0-H 组,添加 FM2.0; B, D, F, H, J, L 组的光照强度为 $8 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$. □ 为 0-L 组,没有添加摄食对象和营养盐,作为阴性对照组; □ 为 B-L 组,添加 FLB; □ 为 0.5-L 组,添加 FM0.5; □ 为 A-L 组,添加 FLA; □ 为 2.0-L 组,添加 FM2.0

除了 PDDH 对 4 种摄食对象均没有摄食,其它 5 株甲藻均观察到摄食现象(图 3)。AM 在高低两光照条件下均可摄食 FM0.5 和 FLA,最大摄食率分别为 $(15\pm3)\%$ 和 2% ,发生低光照 4h 和高光照 4h(即 14:00)(图 3A 和表 5)。ACDH 在高低两光照条件下均可摄食对 FLB、FM0.5 和 FLA,最大摄食率分别为 $(5.5\pm1.5)\%$ 、 $(7.5\pm0.5)\%$ 和 $(6\pm2)\%$,发生在高光照 24h、低光照 4h 和高光照 4h(图 3B 和表 5)。ACDH 对 FLB 的摄食时间较晚,在高低两光照条件分别是在 24h 和 48h。ATHK 仅在低光照条件下可以摄食 FLB 和 FM0.5,最大摄食率分别为 $(7\pm2)\%$ 和 $(9\pm2)\%$,均发生在 4h(图 3C 和表 5)。PM 跟 ACDH 一样,在高低两光照条件下,对 FLB、FM0.5 和 FLA 均有摄食,最大摄食率分别为 $(12.5\pm1.5)\%$ 、 $(15.5\pm0.5)\%$ 和 $(4.5\pm0.5)\%$,发生时间分别为高光照 4h,高光照 4h 和低光照 12h(图 3D 和表 5)。Pmini-K 在高低两光照条件下可以摄食 FM0.5,最大摄食率为 $(9\pm1)\%$ 发生在 4h(图 3E 和表 5)。

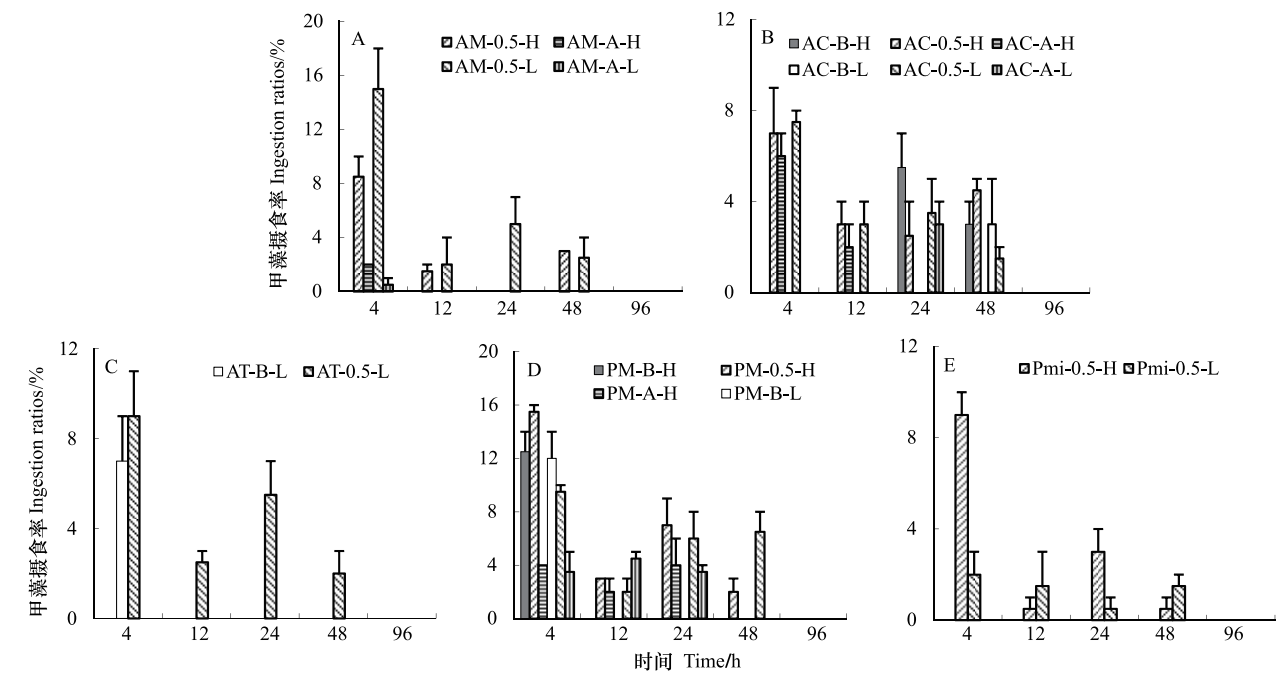


图3 甲藻对4种摄食对象的摄食率
Fig. 3 Ingestion ratios of dinoflagellates to four objects
A: AM, B: ACDH, C: ATHK, D: PM, E: Pmini-K

从图 3 和表 5 可以看出,除了 ACDH 对 FLB 在 24h 才观察到摄食,PM 对 FLA 摄食率是在低光照条件的 12h 达到 $(4.5\pm0.5)\%$ (与其在高光照条件下的 4 小时摄食率 $(3.5\pm1.5)\%$ 接近)外,其它均是在 4h 达到最大。而且除了 ATHK 仅在低光照条件下观察到摄食外,其它在高低光照均有摄食。对比 5 株藻 4h、12h 和 24h 的摄食率,可以看出甲藻在白天的摄食能力强于夜间,具体的原因并不清楚,可能藻白天生理机能比较强有关,体内相关酶的活性也较晚上强。

表 4 甲藻对 4 种摄食对象的摄食统计

摄食对象 Ingestion object	甲藻 Dionflagellate					
	AM	ACDH	ATHK	PM	PDDH	Pmini-K
荧光标记等鞭金藻 <i>I. galbana</i>	+	+	-	+	-	-
荧光标记细菌	-	+	+	+	-	-
直径 0.5μmol/L 羧酸脂荧光微球	+	+	+	-	-	+
直径 2.0μmol/L 羧酸脂荧光微球	-	-	-	-	-	-

“+”表示有摄食,“-”表示无摄食

表 5 甲藻对 4 种摄食对象的最大摄食率和发生时间
Table 5 Biggest ingestion ratios and occurrence time of dinoflagellates to four objects

甲藻 Dinoflagellate	摄食对象 Ingestion object							
	FLB		FM0.5		FLA		FM2.0	
	最大摄食率/%	时间/h	最大摄食率/%	时间/h	最大摄食率/%	时间/h	最大摄食率/%	时间/h
AM	0	—	15±3	4(L)	2	4(H)	0	—
ACDH	5.5±1.5	24(H)	7.5±0.5	4(L)	6±2	4(H)	0	—
ATHK	7±2	4(L)	9±2	4(L)	0	—	0	—
PM	12.5±1.5	4(H)	15.5±0.5	4(H)	4.5±0.5	12(L)	0	—
Pmini-K	9±1	4(H)	0	—	0	—	0	—
PDDH	0	—	0	—	0	—	0	—

(H)表示甲藻的培养光照强度为 $45 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$, (L)表示甲藻的培养光照强度为 $8 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$

3 讨论

3.1 甲藻的摄食能力

虽然没有观察到 PDDH 的摄食现象,在另外的实验发现 PDDH 可以摄食含有绿色荧光蛋白 (GFP) 的活大肠杆菌。因此,本研究中的 6 株甲藻很可能都具有摄食能力,只是对摄食对象的选择存在差异(表 4)。

3.2 甲藻的摄食方式

目前已知的甲藻摄食方式是 3 种方式,其一是直接吞噬,顾名思义就是直接吞噬整个食物对象,最早是在一些无甲壳种类中发现这种摄食方式,如裸甲藻 *Gymnodinium*, 环沟藻 *Gyrodinium*, 夜光藻 *Noctiluca* 等。但近年来在一些具甲壳的种类中也有发现,如原甲藻 *Prorocentrum*、亚历山大藻等 *Alexandrium*。其二是出管摄食,出管摄食在无甲壳和具甲壳的兼性营养和异养营养中较为常见,如前沟藻 *Amphidinium*, 鳍藻 *Dinophysis*, 环沟藻 *Gyrodinium*, 拟多甲藻 *Peridiniopsis*。其三是套膜吞噬,仅仅是一些异养的具甲壳的种类被证实具有这种摄食方式,如原多甲藻 *Protoperdinium*, 翼藻 *Diplopsalis*^[18]。实验采用的几株甲藻均是具甲壳的,而且有关学者已经对其摄食方式进行了研究,认为原甲藻可以通过藻细胞体多处接合部分直接吞噬整个完整的食物^[7],如腹面下部、背面下部、右上部、左上部、右下部 and 左下部的接合处均可以进行吞噬。但是,亚历山大藻可以在纵沟处进行吞噬。没有专门针对摄食行为设计实验,但是从摄食后的可见光和荧光显微镜观察可以证实采用的几株甲藻也均是采用直接吞噬的方式进行摄食。

3.3 甲藻摄食对象的选择性

对以往有关这 6 株甲藻的摄食报道进行了统计(表 6)。有报道塔玛亚历山大藻和微小原甲藻均可吞噬荧光标记细菌,实验没有观察到微小原甲藻吞噬荧光标记细菌,这可能与细菌种类不同有关。另外,有报道塔玛亚历山大藻、微小原甲藻、东海原甲藻和海洋原甲藻均能吞噬等鞭金藻,但本实验中,塔玛亚历山大藻、微小原甲藻和东海原甲藻并不吞噬荧光标记等鞭金藻。前人报道中的等鞭金藻直径为 $(5.2 \pm 1.0) \mu\text{m}$,而本实验采用的等鞭金藻直径为 $(4.9 \pm 0.5) \mu\text{m}$,两者并没有明显差别。原因可能是报道中采用了活的等鞭金藻直接投喂,而为了便于观察摄食现象本实验采用了 DTAF 荧光标记等鞭金藻。标记后的金藻静止不动无生命活动,以及荧光标记可能会改变金藻表面的结构,这些原因都可能导致甲藻对其识别、吞噬能力的降低。可见,甲藻对摄食对象的大小,种类等具有选择性。曾有报道利用 $1 \mu\text{m}$ 荧光微球去标记自然水体中的浮游植物进而去研究叉角藻 *Ceratium furca* 的摄食能力^[19]。近年来,荧光微球被尝试直接用于异养营养甲藻的摄食能力研究中^[20],发现 $0.5 \mu\text{m}$ 荧光微球可以较好的模拟异养营养型甲藻对细菌级大小食物的摄食。因此,尝试采用粒径分别为 $0.5 \mu\text{m}$ 和 $2.0 \mu\text{m}$ 的 2 种荧光微球作为摄食对象,去模拟和对比研究兼性营养型甲藻对细菌大小级和几个微米级浮游植物摄食。研究发现,这些兼性营养型甲藻的摄食具有一定的选择性,荧光微球并不能完全代替自然生物去研究兼性营养型甲藻的摄食。微小亚历山大藻可以吞噬荧光标记等鞭金藻,链状亚历山大藻可吞噬食荧光标记等鞭金藻和荧光标记细菌。

3.4 甲藻摄食调节因子

既能进行光合作用,又能通过摄食细菌或其它微小生物来满足其生长和繁殖所需的混合营养型(或称为

兼性营养性) 浮游生物,按照主要营养途径,可分为自由营养、主光合营养和主吞噬营养三大类群^[21]。采用 6 株甲藻应属于主光合营养的类群。主光合营养类群根据吞噬营养的调节机制,又可分为 3 个亚群。亚群 A,吞噬营养受无机营养盐浓度的调节,在无机营养盐受限制时进行摄食;亚群 B,吞噬营养受光的调节,当光成为限制因子时,混合营养型浮游生物通过摄食来获取碳源;亚群 C,吞噬营养的目的只是为了获得生长所需的微量有机物,因而不受溶解无机营养盐浓度和光照条件变化的影响^[22]。

表 6 6 株甲藻的摄食报道统计
Table 6 Reports of six dinoflagellate species feeding

摄食对象 Ingestion object	甲藻 Dionoflagellate						参考文献
	AM	AC	AT	PM	PD	Pmini	
聚球藻 <i>Synechococcus</i> sp.	+	+	+	+	+	+	[6]
隐藻	N	N	+	+	+	+	[7,23,24]
强壮前沟藻 <i>Amphidinium carterae</i>	N	N	+	+	+	+	[7]
盐沼隐藻 <i>Rhodomonas salina</i>	N	N	+	+	+	+	[7]
赤潮异弯藻 <i>Heterosigma akashiwo</i>	N	N	+	+	+	+	[7]
微小原甲藻 <i>P. minimum</i>	N	N	+	+	+	/	[7]
东海原甲藻 <i>P. donghaiense</i>	N	N	-	+	/	-	[7]
三角棘原甲藻 <i>P. triestinum</i>	N	N	-	+	-	-	[7]
等鞭金藻 <i>I. galbana</i>	N	N	+	+	+	+	[7]
荧光标记细菌	N	N	+	N	N	+	[25]
同位素标记细菌	N	N	+	N	N	+	[25,26]

AM: 微小亚历山大藻, AC: 链状亚历山大藻, AT: 塔玛亚历山大藻, PM: 海洋原甲藻, PD: 东海原甲藻, Pmini: 微小原甲藻;“+”表示有摄食,“-”表示无摄食,“N”表示没有被报道

一般认为在光照限制条件下摄食的目的是为了获取有机碳物质;而光照不限制,可以进行光合作用时,摄食的主要目的是获取其他生长必需的营养物质,如 N、P、Fe 等元素^[27-34]。除了塔玛亚历山大藻只在光照限制条件下进行吞噬外,其它 4 株藻在高光照和低光照条件下均可以吞噬,而且摄食对象基本相同,说明光照应该不是这些甲藻摄食的调节或激发因子。实验中的藻处于营养限制状态,因此,这些甲藻的摄食很可能受无机营养盐浓度的调节。不能完全排除摄食营养目的只是为了获得生长所需的微量有机物可能性,因此,需要进一步的实验来验证。

一些研究指出一些兼性营养型的甲藻只有在 DIP 或/和 DIN 限制时才能开始吞噬,并不是光照限制^[4,25],如 *Chrysochromulina polylepis* 的兼性营养是 DIP 浓度依赖。因此,兼性营养被认为是一种在营养盐限制环境中的适应策略^[25]。研究发现环沟藻 *Gyrodinium galatheanum* 的吞噬能力与 DIP 浓度具有负相关性^[35]。但另一些研究认为摄食能力是对碳代谢一种补充机制或者是为了获取微量的有机物质^[36-37]。同时,也有观点认为光照限制激发了甲藻的兼性营养^[38]。近年来,一个新的观点认为即使在富营养化水体中,兼性营养也是一种营养获取机制,而且认为对甲藻赤潮的爆发与维持具有重要作用^[1]。在无机营养充足的条件下,兼性营养的生长率依然高于纯光合作用的生长率^[7]。因此,通过对比这些研究的甲藻种类和实验条件,可以认为不同甲藻的兼性营养可能具有不同环境调节(激发)因子,而且可能存在多个环境因子共同作用。

3.4 甲藻兼性营养的意义

随着越来越多的传统认为是自养型的甲藻被证实具有兼性营养能力,使对具有兼性营养能力的甲藻在海洋浮游生态系统中地位和作用有了新的认识,甲藻的兼性营养在甲藻赤潮形成中的作用也渐渐被认识和关注。某些大的甲藻可以摄食小的甲藻、硅藻或其它微小藻类。根据在赤潮爆发现场观察到赤潮藻的优势种从前沟藻 *Amphidinium* sp. (直径 (6.6±1.8) μm)向赤潮异弯藻 *H. akashiwo* (直径 (11.5±1.9) μm)、微小原甲藻 *P. minimum* (直径 (12.1±2.5) μm)、三角棘原甲藻 *P. triestinum* (直径 (12.6±2) μm)、双胞旋沟藻 *Cochlodinium. Polykrikoides* (直径 (25.9±2.9) μm)、海洋原甲藻 *P. micans* (直径 (26.6±2.8) μm) 的系列

演替过程,Jeong 等认为这种演替与甲藻的摄食能力有关^[7]。同时也有观察到赤潮爆发时甲藻向小型硅藻和其它鞭毛藻丰富的地方主动迁移。近年来,在我国东海长江口及邻近海域每年都存在硅藻赤潮到甲藻赤潮的演替过程,这与海域营养盐浓度、组成结构和气候等变化有很大关系。主要的赤潮原因种,如东海原甲藻 *P. donghaiense*、链状亚历山大藻 *A. catenella* 和米氏凯伦藻 *Karenia mikimotoi* (米氏凯伦藻可以吞噬细菌和其它微藻) 的摄食能力也可能在其赤潮爆发的初期起重要作用。因此,在考虑兼性营养性甲藻赤潮爆发原因时可能需要将其摄食能力考虑在内。

3.5 甲藻兼性营养生态学的展望

(1) 新技术在甲藻兼性营养生态学中的应用

由于兼性营养型甲藻存在多种不同的摄食机制,而且甲藻一般较原生动物个体少。传统研究原生动物摄食行为的方法已不太适用于兼性营养型甲藻的摄食研究。目前最主要的技术还是荧光标记法,虽然说该技术曾很好的推动了兼性营养型甲藻的摄食定性和定量研究。但是由于荧光标记物一般是人工合成或是灭活处理过,与自然的活体生物具有差别,并不能完全代替活体生物,因此往往造成摄食率和兼性营养型甲藻多样性的低估。因此,新的技术和方法的应用就显得很重要,也很紧迫。目前一些活体荧光技术逐渐被采用。如利用从水母 *Aequorea victoria* 体内分离的绿色荧光蛋白(GFP)基因 *gfp* gene 可以在大肠杆菌 *Escherichia coli* 中表达,可以利用这种带有 *gfp* gene 的大肠杆菌作为标记物,去研究兼性营养型甲藻对细菌的摄食。本文在这方面进行了有益的尝试,发现有些甲藻可以吞活的 GFP 大肠杆菌。再就是利用一些生物的自体荧光有别于甲藻自体荧光的特点。如利用一些隐藻、聚球藻具有藻红蛋白这个特点进行食物链的构建去研究兼性营养型甲藻的摄食。在此基础上结合探针技术进行多层标记,如采用 LysoSensor DND-167 探针以及 LysoSensor DND-160 探针等对食物泡进行标记^[39-40]。此外,一些分子生物学技术,如全细胞原位标记技术(FISH)等也开始被应用。

(2) 甲藻兼性营养生态学应该开始进入从模拟实验到现场实验的转型阶段

由于野外实验的难度性大,目前的大部分甲藻兼性营养生态学还是在室内模拟阶段,或者是野外的模拟实验,如添加荧光标记的食物到自然水体中去研究水体中浮游植物摄食。这些实验多数是在室内纯种培养条件下进行的,添加的食物单一,而且并不是自然界中甲藻自然选择的最合适食物或食物组合。因此,通过这些方法得到甲藻的最大生长率可能远低于自然水体中的,从而也无法更好地估计摄食能力对兼性营养型甲藻生长的贡献。2010 年第 14 届国际有害藻类大会就明确提出有害藻类的兼性营养研究应该从室内走向野外。

(3) 应关注甲藻的兼性营养的生态学意义

由于兼性营养型甲藻可以摄食较小的浮游植物、细菌,甚至原生动物,赤潮甲藻与共存的其它微藻之间不仅仅只是营养竞争的关系,还可能存在捕食者与被捕食者之间的关系;同时出现的赤潮甲藻之间若是捕食对象相同或相似,那么它们之间也存在竞争食物的关系;赤潮甲藻也可能与一些异养原生动物之间存在竞争食物关系^[7]。这将打破了经典食物链(浮游植物-浮游动物-鱼类),物质和能量不再是简单从生产者传递到消费者,而是变得更加复杂。那么,如何充分地认识甲藻的兼性营养作用或能力就有很重要的生态学意义。从目前的研究成果来看,不同甲藻的兼性营养能力对甲藻自身生长的贡献大小并不相同,而且兼性营养型甲藻的摄食行为和摄食对象也存在很大的差异^[22]。因此,需要通过大量的有关研究去研究兼性营养型甲藻的摄食能力的调节机制,例如常量营养盐(N、P)调节、C 调节、光照调节以及其它微量营养元素调节等。再者,需要了解兼性营养型甲藻与其它浮游植物、浮游动物类群之间的营养关系。在此基础上才可能去深入了解甲藻兼性营养的生态学意义。

致谢:暨南大学齐雨藻教授、吕颂辉教授,中国科学院海洋研究所孙晓霞博士提供实验藻株,特此致谢。

References:

- [1] Burkholder J M, Glibert P M, Skelton H M. Mixotrophy, a major mode of nutrition for harmful algal species in eutrophic waters. *Harmful Algae*,

- 2008, 8 (1): 77-93.
- [2] Stoecker D K. Mixotrophy among dinoflagellates. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 1999, 46 (4): 397-401.
- [3] Stoecker D, Tillmann U, Granéli E. Phagotrophy in harmful algae//Granéli E, Turner J T, eds. *Ecology of Harmful Algae*. Berlin Heidelberg: Springer, 2006:177-187.
- [4] Li A S, Stoecker D K, Adolf J E. Feeding, pigmentation, photosynthesis and growth of the mixotrophic dinoflagellate *Gyrodinium galatheanum*. *Aquatic Microbial Ecology*, 1999, 19 (2): 163-176.
- [5] Jeong H J, Yoo Y D, Seong K A, Kim J H, Park J Y, Kim S, Lee S H, Ha J H, Yih W H. Feeding by the mixotrophic red-tide dinoflagellate *Gonyaulax polygramma*: mechanisms, prey species, effects of prey concentration, and grazing impact. *Aquatic Microbial Ecology*, 2005, 38 (3): 249-257.
- [6] Jeong H J, Park J Y, Nho J H, Park M O, Ha J H, Seong K A, Jeng C, Seong C N, Lee K Y, Yih W H. Feeding by red-tide dinoflagellates on the cyanobacterium *Synechococcus*. *Aquatic Microbial Ecology*, 2005, 41 (2): 131-143.
- [7] Jeong H J, Yoo Y D, Park J Y, Song J Y, Kim S T, Lee S H, Kim K Y, Yih W H. Feeding by phototrophic red-tide dinoflagellates: five species newly revealed and six species previously known to be mixotrophic. *Aquatic Microbial Ecology*, 2005, 40 (2): 133-150.
- [8] Jeong H J, Ha J H, Yoo Y D, Park J Y, Kim J H, Kang N S, Kim T H, Kim H S, Yih W H. Feeding by the *Pfiesteria*-like heterotrophic dinoflagellate *Luciella masanensis*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2007, 54 (3): 231-241.
- [9] Kamjunke N, Henrichs T, Gaedke U. Phosphorus gain by bacterivory promotes the mixotrophic flagellate *Dinobryon* spp. during re-oligotrophication. *Journal of Plankton Research*, 2007, 29 (1): 39-46.
- [10] Berge T, Hansen P J, Moestrup Ø. Feeding mechanism, prey specificity and growth in light and dark of the plastidic dinoflagellate *Karlodinium armiger*. *Aquatic Microbial Ecology*, 2008, 50 (3): 279-288.
- [11] Yoo Y D, Jeong H J, Kim M S, Kang N S, Song J Y, Shin W, Kim K Y, Lee K. Feeding by phototrophic red-tide dinoflagellates on the ubiquitous marine diatom *Skeletonema costatum*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2009, 56 (5): 413-420.
- [12] Glibert P M, Burkholder J M, Kana T M, Alexander J, Skelton H, Shilling C. Grazing by *Karenia brevis* on *Synechococcus* enhances its growth rate and may help to sustain blooms. *Aquatic Microbial Ecology*, 2009, 55 (1): 17-30.
- [13] Yoo Y D, Jeong H J, Kang N S, Song J Y, Kim K Y, Lee G, Kim J H. Feeding by the newly described mixotrophic dinoflagellate *Paragymnodinium shiwhaense*: feeding mechanism, prey species, and effect of prey concentration. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2010, 57 (2): 145-158.
- [14] Legrand C, Granéli E, Carlsson P. Induced phagotrophy in the photosynthetic dinoflagellate *Heterocapsa triquetra*. *Aquatic Microbial Ecology*, 1998, 15 (1): 65-75.
- [15] Granéli E, Johansson N. Increase in the production of allelopathic substances by *Prymnesium parvum* cells grown under N- or P-deficient conditions. *Harmful Algae*, 2003, 2 (2): 135-145.
- [16] Zhou M J, Zhu M Y. Progress of the project "Ecology and oceanography of Harmful Algal Blooms in China". *Advance in Earth Science*, 2006, 21 (7): 673-679.
- [17] Kamykowski D. Trajectories of Autotrophic Marine Dinoflagellates. *Journal of Phycology*, 1995, 31 (2): 200-208.
- [18] Hansen P J, Calado A J. Phagotrophic mechanisms and prey selection in free-living dinoflagellates. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 1999, 46 (4): 382-389.
- [19] Smalley G W, Coats D W, Adam E J. A new method using fluorescent microspheres to determine grazing on ciliates by the mixotrophic dinoflagellate *Ceratium furca*. *Aquatic Microbial Ecology*, 1999, 17 (2): 167-179.
- [20] Jeong H J, Seong K A, Yoo Y D, Kim T H, Kang N S, Kim S, Park J Y, Kim J S, Kim G H, Song J Y. Feeding and grazing impact by small marine heterotrophic dinoflagellates on heterotrophic bacteria. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2008, 55 (4): 271-288.
- [21] Stoecker D K. Conceptual models of mixotrophy in planktonic protists and some ecological and evolutionary implications. *European Journal of Protistology*, 1998, 34 (3): 281-290.
- [22] Dai C J, He J F, Wang G Z, Li S Q. A review of ecological research on mixotrophic plankton. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(9): 2399-2405.
- [23] Li A S, Stoecker D K, Coats D W, Adam E J. Ingestion of fluorescently labeled and phycoerythrin-containing prey by mixotrophic dinoflagellates. *Aquatic Microbial Ecology*, 1996, 10 (2): 139-147.
- [24] Stoecker D K, Li A S, Coats D W, Gustafson D E, Nannen M K. Mixotrophy in the dinoflagellate *Prorocentrum minimum*. *Marine Ecology-Progress Series*, 1997, 152 (1/3): 1-12.
- [25] Nygaard K. Bacterivory in algae: a survival strategy during nutrient limitation. *Limnology and Oceanography*, 1993, 38 (2): 273-279.
- [26] Seong K A, Jeong H J, Kim S, Kim G H, Kang J H. Bacterivory by co-occurring red-tide algae, heterotrophic nanoflagellates, and ciliates. *Marine Ecology-Progress Series*, 2006, 322: 85-97.

- [27] Bird D F, Kalff J. Bacterial grazing by planktonic lake algae. *Science*, 1986, 231 (4737): 493-495.
- [28] Sanders R W. Mixotrophic protists in marine and fresh-water ecosystems. *Journal of Protozoology*, 1991, 38 (1): 76-81.
- [29] Tittel J, Bissinger V, Zippel B, Gaedke U, Bell E, Lorke A, Kamjunke N. Mixotrophs combine resource use to outcompete specialists: Implications for aquatic food webs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100 (22): 12776-12781.
- [30] Granéli E, Carlsson P, Legrand C. The role of C, N and P in dissolved and particulate organic matter as a nutrient source for phytoplankton growth, including toxic species. *Aquatic Ecology*, 1999, 33 (1): 17-27.
- [31] Stickney H L, Hood R R, Stoecker D K. The impact of mixotrophy on planktonic marine ecosystems. *Ecological Modelling*, 2000, 125 (2/3): 203-/230.
- [32] Raven J A. Phagotrophy in phototrophs. *Limnology and Oceanography*, 1997, 42 (1): 198-/205.
- [33] Li A S, Stoecker D K, Coats D W. Spatial and temporal aspects of *Gyrodinium galatheanum* in Chesapeake Bay: distribution and mixotrophy. *Journal of Plankton Research*, 2000, 22 (11): 2105-/2124.
- [34] Li A S, Stoecker D K, Coats D W. Mixotrophy in *Gyrodinium galatheanum* (Dinophyceae): grazing responses to light intensity and inorganic nutrients. *Journal of Phycology*, 2000, 36 (1): 33-/45.
- [35] Skovgaard A. A phagotrophically derivable growth factor in the plastidic dinoflagellate *Gyrodinium resplendens* (Dinophyceae). *Journal of Phycology*, 2000, 36 (6): 1069-/1078.
- [36] Jones H L J, Durjun P, Leadbeater B S C, Green J C. The relationship between photoacclimation and phagotrophy with respect to chlorophyll-a, carbon and nitrogen-content, and cell-size of *Chrysochromulina-brevifilum* (Prymnesiophyceae). *Phycologia*, 1995, 34 (2): 128-134.
- [37] Carvalho W F, Granéli E. Acidotropic probes and flow cytometry: a powerful combination for detecting phagotrophy in mixotrophic and heterotrophic protists. *Aquatic Microbial Ecology*, 2006, 44 (1): 85-/96.
- [38] Bowers H A, Brutemark A, Carvalho W F, Granéli E. Combining flow cytometry and real-time PCR methodology to demonstrate consumption by *Prymnesium parvum*. *Journal of the American Water Resources Association*, 2010, 46 (1): 133-143.

参考文献:

- [16] 周名江, 朱明远. “我国近海有害赤潮发生的生态学、海洋学机制及预测防治”研究进展. *地球科学进展*, 2006, 21(7): 673-679.
- [22] 戴聪杰, 何剑锋, 王桂忠, 李少菁. 混合营养型浮游生物生态学研究进展. *生态学报*, 2005, 25(9): 2399-2405.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.32 ,No.2 January ,2012(Semimonthly)

CONTENTS

Dynamics of demersal fish species diversity and biomass of dominant species in autumn in the Beibu Gulf, northwestern South China Sea	WANG Xuehui, QIU Yongsong, DU Feiyan, et al (333)
Spatial variation in species richness of birds and mammals in mainland China	DING Jingjing, LIU Dingzhen, LI Chunwang, et al (343)
Comparative study on learning behavior and electroantennogram responses in two geographic races of <i>Cotesia glomerata</i>	WANG Guohong, LIU Yong, GE Feng, et al (351)
Biological characteristics and habitat requirements of <i>Parnassius imperator</i> (Lepidoptera: Parnassidae)	FANG Jianhui, LUO Youqing, NIU Ben, et al (361)
Annual variability in biological characteristics of <i>Illex argentinus</i> in the southwest Atlantic Ocean	FANG Zhou, LU Huajie, CHEN Xinjun, et al (371)
The impact of run-of stream dams on benthic macroinvertebrate assemblages in urban streams	HAN Minghua, YU Haiyan, ZHOU Bin, et al (380)
Effect of suspended sediment on the feeding physiology of <i>Pinctada martensii</i> in laboratory	LI Zhimin, SHEN Yuchun, YU Nantao, et al (386)
Potential nutrient limitation of phytoplankton growth in the Western and Central Pacific Ocean	XU Yanqing, CHEN Jianfang, GAO Shengquan, et al (394)
Ingestion of selected HAB-forming dinoflagellates	ZHANG Qingchun, YU Rencheng, SONG Jingjing, et al (402)
Formation of aggregation by <i>Phaeocystis globosa</i> (Prymnesiophyceae) in response to high grazing pressure	WANG Xiaodong, WANG Yan (414)
Growth and reproduction of the green macroalga <i>Ulva prolifera</i>	ZHANG Bixin, WANG Jianzhu, WANG Yifu, et al (421)
Screening of growth decline related genes from <i>Alexandrium catenella</i>	ZHONG Jie, SUI Zhenghong, WANG Chunyan, et al (431)
Analysis of inherent optical properties of Lake Taihu in spring and its influence on the change of remote sensing reflectance	LIU Zhonghua, LI Yunmei, LU Heng, et al (438)
Neural network modeling of the eutrophication mechanism in Lake Chenghai and corresponding scenario analysis	ZOU Rui, DONG Yunxian, ZHANG Zhenzhen, et al (448)
The compensatory growth of shrubby <i>Pinus thunbergii</i> response to the boring stress in sandy coast	ZHOU Zhen, LI Chuanrong, XU Jingwei, et al (457)
Selected body temperature and thermal tolerance of tadpoles of two frog species (<i>Fejervarya limnocharis</i> and <i>Microhyla ornata</i>) acclimated under different thermal conditions	SHI Linqiang, ZHAO Lihua, MA Xiaohao, et al (465)
Effects of landscape structure and key landscape factors on aphids-parasitoids-hyper parasitoids populations in wheat fields	ZHAO Zihua, WANG Ying, HE Dahan, et al (472)
Effects of cadmium on lipid peroxidation and ATPase activity of plasma membrane from Chinese kale (<i>Brassica alboglabra</i> Bailey) roots	ZHENG Aizhen (483)
Effects of ginger aqueous extract on soil enzyme activity, microbial community structure and soil nutrient content in the rhizosphere soil of ginger seedlings	HAN Chunmei, LI Chunlong, YE Shaoping, et al (489)
Manganese tolerance and accumulation in mycelia of <i>Cordyceps kyusyuensis</i>	LUO Yi, CHENG Xianhao, ZHANG Congcong, et al (499)
Influence of oxytetracycline exposure on antibiotic resistant bacteria and enzyme activities in wheat rhizosphere soil	ZHANG Hao, ZHANG Lilan, WANG Jia, et al (508)
Effects of elevated nitrogen deposition on soil organic carbon mineralization and soil enzyme activities in a Chinese fir plantation	SHEN Fangfang, YUAN Yinghong, FAN Houbao, et al (517)
Differences in clonal growth between female and male plants of <i>Rhus typhina</i> Linn. and their diurnal changes in photosynthesis and chlorophyll fluorescence	ZHANG Mingru, WEN Guosheng, ZHANG Jin, et al (528)
Soil water holding capacity under four typical ecosystems in Wuyunjie Nature Reserve of Hunan Province	PAN Chunxiang, LI Yuyuan, PENG Yi, et al (538)
The effect of different land use patterns on soil properties in alpine areas of eastern Qilian Mountains	ZHAO Jinmei, ZHANG Degang, LIU Changzhong, et al (548)
Responses of soil macro-fauna to land desertification in sandy grassland	LIU Rentao, ZHAO Halin (557)
Characteristics of cultivable microbial community number and structure at the southeast edge of Tengger Desert	ZHANG Wei, ZHANG Gaosen, LIU Guangxiu, et al (567)
Physiological and ecological responses of maize to different severities of desertification in the Southern Taramakan desert	LI Lei, LI Xiangyi, LIN Lisha, WANG Yingju, et al (578)
Characterization of caloric value in fifteen plant species in <i>Leymus chinensis</i> steppe in Xilin River Basin, Inner Mongolia	GAO Kai, XIE Zhongbing, XU Sutie, et al (588)
Spatial pattern responses of <i>Achnatherum splendens</i> to environmental stress in different density levels	ZHANG Mingjuan, LIU Maosong, XU Chi, et al (595)
Effects of environmental factors on species distribution and diversity in an <i>Abies fargesii</i> - <i>Betula utilis</i> mixed forest	REN Xuemin, YANG Gaihe, WANG Dexiang, et al (605)
Effects of alginate cerium complexes on ascorbate- glutathione cycle in spinach leaves under chlorpyrifos stress	LUAN Xia, CHEN Zhende, WANG Dongfeng, et al (614)
Analysis on spatiotemporal changes of urban thermal landscape pattern in the context of urbanisation: a case study of Xiamen City	HUANG Jucong, ZHAO Xiaofeng, TANG Lina, et al (622)
The analysis of the green vegetation cover change in western Sichuan based on GIS and Remote sensing	YANG Cunjian, ZHAO Zijian, REN Xiaolan, et al (632)
An inventory of BVOC emissions for a subtropical urban-rural complex: Greater Taizhou Area	CHANG Jie, REN Yuan, SHI Yan, et al (641)
Scientific Note	
Litter decomposition and nutrient dynamics of <i>Carex lasiocapa</i> under different water conditions	HOU Cuicui, SONG Changchun, LI Yingchen, et al (650)
Nest-box color preference and reproductive success of great tit	ZHANG Keqin, DENG Qiuxiang, Justin Liu, et al (659)

《生态学报》2012 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的自然科学高级学术期刊,创刊于 1981 年。主要报道生态学研究原始创新性科研成果,特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评介和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,280 页,国内定价 70 元/册,全年定价 1680 元。

国内邮发代号:82-7 国外邮发代号:M670 标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

编辑部主任 孔红梅 执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报
(SHENGTAI XUEBAO)
(半月刊 1981 年 3 月创刊)
第 32 卷 第 2 期 (2012 年 1 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 32 No. 2 2012

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元