

# 休眠孢囊作为甲藻有害藻华年际频发和地理扩散一种关键机制的研究进展\*

唐赢中<sup>1, 2①</sup> 胡章喜<sup>1, 2</sup> 邓蕴彦<sup>1, 2</sup>

(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. 青岛海洋科学与技术国家实验室 海洋生态与环境科学功能实验室, 青岛 266071)

**摘要** 过去几十年, 中国近海有害藻华的发生频率持续升高、规模和面积不断增大, 使我国水产养殖业、渔业造成了重大损失, 对近岸生态系统也构成了极大威胁。在引起有害藻华的众多原因中, 甲藻的特殊生活史策略(尤其是形成休眠孢囊)提供了一种关键的机理。孢囊的形成过程通常伴随着基因重组, 从而增加了赤潮藻的生态适应性; 孢囊具有厚的囊壁, 增加了其对不利环境条件的耐受性, 也使其免于病原体的感染和捕食者的攻击; 孢囊的适时萌发不但为藻华提供了“种源”, 而且它们可通过自然或人为途径(如船舶压舱水)传播, 从而扩大了其地理分布。本文从如下几个重要方面综述并讨论了甲藻生活史和孢囊研究的最新进展: ①甲藻生活史的复杂性和有关甲藻孢囊概念及归类的争议; ②沉积物中孢囊分布图(cyst mapping)在藻华模型和预测(报)中的重要性, 以及孢囊分布/丰度与藻华规模耦合关系的复杂性和条件依赖性; ③孢囊形成和萌发的若干影响因子及其复杂性和可变性; ④近年来, 分子生物学技术和各种组学手段在甲藻生活史和孢囊研究中的部分应用, 特别是植物激素在孢囊形成、萌发过程中的可能作用。在简要评述了国际、国内有关研究历史中的路标性成果后, 最后强调了 4 个值得重视的研究方向。

**关键词** 有害藻华; 甲藻; 生活史; 休眠孢囊; 孢囊形成; 孢囊萌发; 压舱水; 沉积物  
**中图分类号** X55 **doi:** 10.12036/hyxxjk20160730001

从 20 世纪 90 年代起, 中国有害藻华的发生频率、规模和面积不断增大, 对沿海养殖业、渔业资源、渔产品质量、生态环境及人类健康构成了重大危害和威胁, 严重影响了沿

海经济的可持续发展。例如, 2000~2005 年, 中国沿海每年因有害藻华造成的直接经济损失高达数千万元, 其中 2005 年东海米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)赤潮对南麂岛的养殖鱼类

\* 资助项目: 国家自然科学基金(41476142, 61533011, 41506143); 国家自然科学基金委-山东省联合基金(U1406403); 中国科学院海洋研究所人才启动项目。

① 通讯作者: 唐赢中, 男, 研究员, 从事有害藻华生态学和浮游植物生态学研究, E-mail: yingzhong.tang@qdio.ac.cn

收稿日期: 2016-07-30, 收修改稿日期: 2016-08-04

造成毁灭性的打击, 仅此一地的直接经济损失就达 2000 万元(周名江和于仁成, 2007)。2000 年以来, 东海长江口和浙江海域每年都会发生大规模东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)赤潮, 面积最高可达上万平方千米, 世界罕见(周名江和于仁成, 2007; 张秀芳和刘永健, 2007)。2012 年, 我国沿海发现赤潮 73 次, 12 次造成灾害, 其中发生在浙江温州和舟山的米氏凯伦藻和东海原甲藻混合赤潮造成 400 多万元的损失, 而发生在福建的 10 余次米氏凯伦藻赤潮覆盖了从泉州到宁德的广大海域, 造成的直接经济损失超过 20 亿元(国家海洋局《2012 年中国海洋灾害公报》)。特别值得关注的是, 在有害藻华发生频次、规模、危害程度逐渐增加的同时, 形成有毒有害藻华的赤潮藻种类数也在不断上升, 新的有毒或可能有毒藻类在最近几年不断被发现, 如链状亚历山大藻(*Alexandrium catenella*, 现名 *A. pacificum*, 译为太平洋亚历山大藻)(Zhou, 2010)、剧毒卡尔藻(*Karlodinium veneficum*)(周成旭等, 2008; Agriculture, Fisheries, and Conservation Department, 2008; 王红霞等, 2011; 徐娜等, 2012)、多环旋沟藻(*Cochlodinium polykrikoides*)(余文翎等, 2011)、*Azadinium poporum*(Gu et al., 2013b)、*Takayama xiamenensis*(顾海峰等, 2006; Gu et al., 2013e)、双胞旋沟藻(*Cochlodinium geminatum*, 现名 *Polykrikos geminatum*)(Qiu et al., 2013), 以及若干从沉积物孢囊萌发而被发现和描述的新种(Gu et al., 2013a, 2013b, 2013d, 2013e)。这不仅对尽快探明我国有害藻华发生和扩散的机制提出了急迫的要求, 也使开展有关藻华暴发机理的研究具有非常重要的科学与现实意义, 特别是针对那些分布范围广泛且造成重大灾害的种类, 如米氏凯伦藻、东海原甲藻和剧毒卡尔藻。甲藻在近岸海域具有高生产力, 是重要的海洋初级生产者之一, 也是海洋微食物环(microbial loop)和珊瑚礁共生体系重要的组成者。然而, 过去几

十年来, 由甲藻引发的有毒有害藻华在世界范围内频繁暴发并呈现逐年增加的态势, 而且若干藻华种类还表现出向其他国家和地区扩散的趋势(Heisler et al., 2008; Anderson et al., 2012), 如在全世界几乎所有重要临海国家出现的亚历山大藻(*Alexandrium* spp.)(Anderson and Wall, 1978; Anderson and Morel, 1979; Smayda, 2007), 在亚(含中、日、韩)洲、美洲、欧洲等地频繁暴发赤潮的多环旋沟藻(Kudela and Gobler, 2012; Tang and Gobler, 2012), 以及在美洲、亚洲、澳大利亚、欧洲都有出现且频繁暴发赤潮的链状裸甲藻(*Gymnodinium catenatum*)(Bolch and de Salas, 2007; Smayda, 2007)。关于有害藻华为何频发且规模面积逐年扩大, 全世界有害藻华生态学家公认的一个外在原因是全球范围的水体富营养化(Heisler et al., 2008; Anderson et al., 2012)。然而, 在特定富营养化海域, 某个有害藻种群能够快速生长形成藻华, 必有其独特的适应策略, 使其能在特定的阶段形成竞争优势。对有害赤潮藻的适应策略进行分析, 是了解有害藻华形成机制的关键途径(周名江和于仁成, 2007)。赤潮藻会采取不同的适应策略, 包括高生长速率、高营养吸收能力或亲和力、混合型营养(Glibert and Legrand, 2006; Stoecker et al., 2006)、依赖性营养(auxotrophy)、特殊营养方式(如对维生素和稀土元素的需求)(Tang et al., 2010)、垂直迁移或水平迁移的行为特征、对极端环境条件(温度、盐度、干燥等)的耐受力、对捕食者和竞争者的毒性效应和化感作用等(周名江和朱明远, 2006; 周名江和于仁成, 2007; Tang and Gobler, 2009a, 2009b, 2010; Anderson et al., 2012)。此外, 还有一类重要策略对有害藻华(特别是甲藻类藻华)的发生和地理扩散具有重要意义, 即藻华原因种的特殊生活史。

## 1 甲藻生活史、休眠孢囊与有害藻华

所谓生活史(life history, life cycle), 是指

藻类细胞或个体在不同形态、生理、遗传状态,以及时空位置上转换的全过程,如从浮游到底栖、运动到静止、光合自养到异养、自由生活到寄生、高代谢到低代谢、无性有丝分裂及伴随的种群增加、有性融合和与此伴随的细胞从单倍体到二倍体甚至多倍体等。生活史过程中的任何一个阶段都可能随种类不同而不同,且受各种内外因素的调节和控制。在有性过程中形成的带有两根纵鞭毛的运动合子(planozygote)可以因为营养等条件合适而继续以营养细胞方式生活,甚至通过减数分裂回到单倍体(N),或者失去鞭毛、沉入水底,继续发育为底栖的休眠孢囊(resting cysts)。这种复杂的生活史从相当程度上为此类群在生态学上的成功提供了条件(Pfiester and Anderson, 1987)。

在上述复杂的生活史中,休眠孢囊的形成(encystment)、在沉积物中的“休眠”(dormancy, resting)和在环境适宜时的萌发(excystment, germination)是对甲藻具有重要意义的生态学过程。多数情况下,休眠孢囊是在环境条件不利(如低温和营养缺乏)时通过有性过程形成的,甲藻细胞通过配子体的结合形成二倍体合子,进而通过形态转化成为不再游动的休眠孢囊(Matsuoka and Fukuyo, 2000; Anderson et al., 2003)。但是,孢囊的形成过程(包括有性或无性、雌雄同株或异株等)、形态结构及功能是多样化的。例如,针对多株不同来源的链状裸甲藻进行的实验表明,雌雄同株(homothallism)或雌雄异株(heterothallism)可以同时存在于一个种(Figueroa et al., 2010)。同一个种的不同种群之间的有性结合还存在相容性(compatibility)的问题(Blackburn et al., 2001; Brosnahan et al., 2010)。例如,对分离自澳大利亚、日本、西班牙和葡萄牙的 21 株链状裸甲藻的杂交实验表明,不同地理种群间的相容性存在明显差异,表现为后代的存活能力及孢囊的休眠期等(Blackburn et al.,

2001)。其他种,如链状亚历山大藻也出现同样的情形(Mardones et al., 2016)。但 Figueroa 和 Bravo(2005)却发现,用不同地理来源的 *G. nolleri* 单细胞系进行杂交,两个种群的遗传差异越大,则孢囊的产率和孢囊存活度越高。塔玛亚历山大藻复合种(*Alexandrium tamarense* species complex)包含 5 个具有不同地理分布的遗传类型,其中有毒的 Group I 和无毒的 Group III 可以杂交,但后代不能存活(Brosnahan et al., 2010)。虽然最近该复合种的 5 个遗传类型已经被分为 5 个种,上述的 Group I 和 Group III 分别描述为 *A. fundyense* 和 *A. tamarense*(John et al., 2014),但不能否认这种非相容性可能还存在于其他亲缘关系更近(即无法区分为不同种)的不同种群之间。休眠孢囊之外,甲藻中还普遍存在无性过程产生的“暂时性孢囊”(temporary cyst),但其生态学功能一直存在争议。Garcés 等(2002)发现,在泰勒亚历山大藻(*A. taylori*)藻华暴发期间,暂时性孢囊沉入水底的量每天可达  $(1.8\sim4.4)\times10^6\text{cysts}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$ ,且在水底至少能存活 4 d,同时其萌发率也达  $(0.9\sim2.7)\times10^6\text{cysts}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$ ,所以研究者认为,该藻种通过形成暂时性孢囊并储存于沉积物中以减少种群损失成为一种有利的生态策略。生活在波罗的海的冷水种 *Scrippsiella hangoei* 在置于黑暗条件下 5 d 后失去鞭毛和甲板,形成“暂时性孢囊”。在暂时性孢囊形成初期,其细胞呼吸速率提高达 10 倍以上,然后降低到几乎无法检测,所以这种暂时性孢囊可通过降低呼吸速率在黑暗条件下长期存活(Rintala et al., 2007)。另外,一种裸甲藻(*Gymnodinium* sp.)和波罗的海别什莱藻(*Biecheleria baltica*)在实验室纯培养条件下可形成能存活 6 个月以上的单倍体“休眠孢囊”(Parrow and Kremp, 2008)。2010 年以前,除“暂时性孢囊”外,还有单层胞壁的“薄壁孢囊”(pellicle, thin-walled cyst)和通过蜕壳(ecdysis)形成也是单层壁的

“蜕壳孢囊”(ecdysal cyst)等概念被提出,它们一般指未经有性过程形成、没有强制休眠期(mandatory dormancy)的孢囊。这3个概念常常被当作同义词使用,Bravo等(2010a)尝试廓清语义的混乱,最后建议统一使用薄壁孢囊(pellicle)。随后,考虑到孢囊的多样性和复杂性,Bravo和Figueroa(2014)在其综述中将甲藻孢囊分为4类,即无性薄壁孢囊(asexual pellicle cyst)、无性休眠孢囊(asexual resting cyst)、有性薄壁孢囊(sexual pellicle cyst)和有性休眠孢囊(sexual resting cyst),他们同时提出“resting cyst”与“thick-walled cyst”(厚壁孢囊)同义。但是,仔细考察这种归类法,并没有使问题得到解决,反而使术语更加混乱,原因在于其在逻辑上并不自洽,因为“pellicle、thin-walled、thick-walled”描述的是细胞形态结构,而“resting”描述的是功能,即“dormancy”,而且“resting cyst”长期被当作是与“temporary”相对的概念(counterpart)使用,如果“temporary”所指的是无强制休眠期,则逻辑上也是自洽的(Tang and Gobler, 2015),问题仅在于如何对暂时性孢囊给予严格、明确的定义。而且,与曾经以为的“底栖阶段的细胞都是不动合子(hypnozygotes, hypnospores)”相反,不管是无性孢囊还是薄壁孢囊,抑或是静止孢囊(quiescent cyst),都有证据表明,它们具有“resting”,即休眠然后萌发的功能,从而都起着种子库的作用(Pfister and Anderson, 1987; Garcés et al., 2002; Rintala et al., 2007; Parrow and Kremp, 2008; Steidinger, 2010; Tang and Gobler, 2012, 2015)。当然,Bravo和Figueroa(2014)对孢囊进行更细致的分类仍然是对有关概念发展有益的尝试。由于现在研究过的种类还只占甲藻种类的一小部分,甲藻生活史更多的复杂性还在不断被揭示。例如,Tang和Gobler(2012)发现,多环旋沟藻(*C. polykrikoides*)的“暂时性孢囊”与休眠孢囊的孢囊壁都是薄而光滑的,但一个可判别特征是前者通过孢

囊的形态转化(transformation)萌发,即细胞形态由圆形、无鞭毛、不运动在1d至两个星期内变化为营养细胞,而后者在更长的时间内(1个月)通过孢囊内部的发育过程(development processes)萌发,萌发后的营养细胞(germling)通过萌发孔(archaeopyle)离开孢囊壁。再如,通过成像流式细胞仪、细胞分选和荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)跟踪微小亚历山大藻(*A. minutum*)细胞DNA含量和细胞核的变化发现,在培养种群内同时存在二倍体和单倍体两个亚种群,也即有性过程形成的运动合子(planozygote)与单倍体的营养细胞同时进行着有丝分裂且有同样的昼夜节律,只有在营养高度匮乏时,很少一部分的运动合子才会形成不动合子(hypnozygote)直至休眠孢囊(Figueroa et al., 2015),这就说明有性融合并不总是与休眠孢囊形成相联系。再如,对某些在开阔大洋生活的甲藻而言,我们习见的孢囊种类一旦形成,由重力作用造成沉降,将意味着细胞永远离开水体,所以它们在进化过程中形成了新的生活史,一是其二倍体的孢囊的休眠期大大缩短(即在沉入水底之前萌发),如*Calciodinellum levantinum*,二是某些种如*Leonella granifera*和*Thoracosphaera heimii*的整个生活史在水体中完成且不一定有有性和二倍体阶段,而是在其单倍体的营养细胞阶段细胞钙化(calcification)(Meier et al., 2007)。可见,有关甲藻生活史和孢囊更加明晰、准确的概念性定义与分类还有待于更多种类的深入研究。最后,孢囊若通过有性过程形成,常常涉及小型化的配子细胞的相对“探戈式舞蹈”、配对和接合(Fukuyo, 2002)。这种“舞蹈”像许多其他行为模式一样,可能涉及细胞间的通讯和交配相容性的判别。例如,Accoroni等(2014)发现,*Ostreopsis cf. ovata*同时存在两种不同的配子交配方式,而且,在配子细胞上锥部(epitheca)似乎存在一个决定或参与交配过程的凸起(process)。在孢囊形成过

程中的一系列事件或阶段中, 每一步可能都是可逆的, 即配子和合子都可能重新回到营养细胞状态(Figueroa and Bravo, 2005; Figueroa et al., 2006; Tang and Gobler, 2015)。

对于甲藻的有害藻华生态学领域, 大多数时候被人们关注的还是休眠孢囊, 即能够长期保存在海洋沉积物中作为种群恢复的“种子”的孢囊。这是因为: 第一, 对于通过有性过程形成的孢囊来说, 因为有性过程常常伴随着基因重组, 从而可维持、提高个体及群体的遗传多样性, 也因之增加其生态适应性(Bravo and Figueroa, 2014); 第二, 孢囊较厚的壁、休眠的生理状态, 或许还有组成囊壁的某些特殊有机物, 如多糖、几丁质等, 可使孢囊免于病毒、细菌、寄生物和捕食者的攻击(Bravo and Figueroa, 2014); 第三, 也是由于孢囊多层胞壁的保护和其“休眠”的生理状态(低能耗), 从而能使孢囊在各种极端环境条件下于底泥中长期保持存活至少经过越冬期, 有时可存活达上百百年(Lundholm et al., 2011; Ribeiro et al., 2011), 遇到合适的环境条件, 如底泥的扰动后再萌发, 也即为种群的长期延续保留了种源(Anderson and Wall, 1978; Anderson and Morel, 1979; Hallegraeff and Bolch, 1991; Smayda, 2007; 顾海峰等, 2011; Tang and Gobler, 2012; Bravo and Figueroa, 2014); 第四, 因为形成孢囊后一般会蜕去鞭毛和失去运动能力从而沉入水底, 加之一个有性方式形成的孢囊需要两个营养细胞, 因而孢囊特别是有性孢囊的形成常常意味着水体中种群的缩小和藻华的衰退(Garcés et al., 2002; 王朝晖, 2007; Díaz et al., 2014); 第五, 最重要的, 休眠孢囊经过“休眠期”后在条件合适, 如春夏温暖季节(一般为次年)萌发成营养细胞回到水体, 从而为新一轮的种群生长甚至藻华起始“接种(inoculation)”(Anderson and Wall, 1978; Anderson and Morel, 1979; Anderson et al., 1983; Anderson, 1989; Matsuoka and

Fukuyo, 2000; Bravo and Figueroa, 2014); 第六, 由于孢囊能够耐受如黑暗、低温、低氧等极端条件的性质, 孢囊可以通过船舶压舱水(或者贝类运输)从一地转运至另一海域, 从而扩大其地理分布(Hallegraeff and Bolch, 1991; Smayda, 2007; Tang and Gobler, 2012, 2015; Bravo and Figueroa, 2014)。由此可见, 休眠孢囊在甲藻的藻华生态学中起着十分关键的作用, 也是甲藻整个生活史中的一个关键阶段(Anderson and Wall, 1978; Anderson and Morel, 1979; Dale, 2001; Matsuoka and Fukuyo, 2003; Smayda, 2007; Tang and Gobler, 2012, 2015)。另外, 还有越来越多的研究表明, 海洋沉积物中的甲藻孢囊特别是不同时间尺度(甚至地质年代尺度)的化石孢囊记录对认识有害藻华暴发与全球气候变化及海洋环境演变, 特别是富营养化和环境污染的发展也具有重要的指示意义(Dale et al., 1999; Dale, 2001; Leroy et al., 2013; Liu et al., 2013), 表层沉积物中的孢囊记录也被用以重建海洋初级生产力、海表水温、盐度、硅浓度和其他营养盐浓度等(Radi et al., 2007)。

沉积物中的孢囊分布和丰度(如链状亚历山大藻孢囊可达  $14\ 627\text{cysts}/\text{cm}^3$ )(Mardones et al., 2016)能够直接影响甚至决定次年赤潮的暴发及其规模, 但并不是简单的线性关系。Anderson 实验室基于长期特别是过去十几年连续的沉积物孢囊分布与丰度调查数据, 对缅甸湾芬迪亚亚历山大藻(*A. fundyense*)赤潮开展富有成效的预测模型研究, 发现孢囊丰度表现出较大的年际变动, 丰度超过  $300\text{cysts}/\text{cm}^3$  的“孢囊富集区(accumulation zones)”的定位, 2009年大的赤潮后孢囊床分布范围的显著扩大和随后的消失、秋天的表层 3cm 孢囊丰度与次年赤潮规模和贝毒强度之间较强的正相关性、应用孢囊丰度与分布的数据建立预测次年赤潮规模的经验模型等(Stock et al., 2005; He et al., 2008; Anderson et al., 2014)。模型表现了很

好的预测能力,但有时也可能完全失败。不过,这些研究推动了其他国家(如西班牙)对藻华种类在沉积物中孢囊的检测、调查和以其为基础的预测研究。Olli 和 Trunov(2010)发现,沉积物中 *Woloszynskia* sp. 孢囊的丰度不仅与沉积物的有机物含量和黏土含量呈显著正相关,也与次年藻华的强度(intensity)呈正相关,虽然其中也有远远逸出线性关系的所谓“逸出点(outlier)”。还有现场工作和模型拟合表明,微小亚历山大藻的孢囊萌发率在营养细胞生长很低或为负值时,或者在藻华起始过程中,对种群增殖起重要作用,但对处于对数增长期的种群基本无影响,而在藻华后期的孢囊形成速率会影响(降低)藻华高峰的细胞密度,但不影响藻华持续时间(Estrada et al., 2010)。他们基于若干不同模型的研究,强调需要对生活史不同阶段的短期的时序可变性(short-term temporal variability)、物理参数及种群增长和损失速率的量化(Estrada et al., 2010)。同样是微小亚历山大藻,另一项研究发现,藻华的规模与前一年检测到的沉积物孢囊丰度无关,而且孢囊形成的平均百分比(2%)也与藻华细胞密度无关(Cosgrove et al., 2014)。那么,沉积在孢囊床(seed beds)的孢囊最少需要多少萌发以达到足够的量为一次“藻华接种”?一般认为,这个数值是很小的,如浅水海域大概需 10 个孢囊每平方厘米(Anderson, 1998)或者深而宽阔的海域需 100~1000 个每平方厘米(Anderson et al., 2005)。孢囊在沉积物中的分布取决于很多因素,如一般封闭或半封闭的海湾其丰度较高(Satta et al., 2010)。

生活史转换与藻华周期存在紧密而复杂的耦合关系(Steidinger and Garccés, 2006),我们现在获得的知识还不允许任何形式的简单化理解。Steidinger(2010)认为,有 3 个主要的耦合关系可用于整合生活史与藻华种及其环境,即底栖与水体的耦合关系(benthic-pelagic

coupling)、内源与外源反馈环(endogenous and exogenous feedback loops)、生物与物理的浓缩机制(bio-physical concentration mechanisms)。浮游植物,如甲藻、硅藻和其他种类在浮游与底栖和单倍体与二倍体之间的世代转换一般被认为是季节性生存于不同生态位的一种生态适应机制,而这种转换的触发因素可能是温度、光照、震荡、水流剪切力、营养、细胞密度、内源或外源的信号分子或营养物质甚至气体(Steidinger, 2010)。Bravo 等(2010b)根据现场监测结果认为,链状裸甲藻的有性生殖是频繁发生的,因此其藻华的发生不依赖于孢囊的萌发,但与此相反,微小亚历山大藻在近岸低盐水体同时存在营养细胞种群和休眠孢囊种群,每年的藻华复发则依赖于孢囊的萌发接种而不是外海的输送。Díaz 等(2014)在智利内陆海对链状亚历山大藻孢囊-藻华即底栖-水体的耦合关系的研究发现,水体中的孢囊密度在藻华密度最高值之后的一个月最高,但当时水体中已没有营养细胞;藻华最高密度之后的 3 个月,沉积物中的孢囊丰度达到最高,但 3 个月之后孢囊丰度只剩下 10%;藻华发生在相对封闭的内海湾,但孢囊的最大密度却在更靠近外海的区域;综合分析表明,藻华发生频率与低温更加相关,而与盐度、叶绿素 a、捕食者无关。笔者根据孢囊丰度的快速衰减认为:孢囊对藻华的发生可能起的作用很有限的观点值得商榷,因为衰减的孢囊丰度去向未知,并且正如研究本身发现的,孢囊的高丰度区与藻华区并不重合,而且为藻华“接种”并不需要很高的孢囊密度(Anderson, 1998)。

使休眠孢囊成为有害藻华生态学研究热点的一个非常重要的原因是发现休眠孢囊还能通过船舶压舱水(ships' ballast water)或者其他人为方式,如贝类的长途运输从一个海域传播到另一个海域,形成外来种或入侵种,并最终可能形成藻华或者影响被入侵水体的群

落结构(Hallegraeff and Bolch, 1991; Smayda, 2007)。Anderson(1989)最早认识到有害藻华似乎在世界范围增加和扩散,随后澳大利亚塔斯玛利亚大学 Hallegraeff 的实验室通过对压舱水底泥中甲藻休眠孢囊的工作,以翔实的数据和事实表明,压舱水及其底泥是有害藻华地理扩散十分重要的途径(Hallegraeff and Bolch, 1991; Hallegraeff, 1993)。例如,在一个水舱的底泥中就可检测到几十种甲藻孢囊,仅塔玛亚历山大藻一种的孢囊就可达 3 亿个(Hallegraeff and Bolch, 1991)。链状裸甲藻和若干种亚历山大藻是现已被广为接受、通过这种方式传播到世界很多地区并形成有毒有害藻华的两个典型例证(Bolch and De Salas, 2007; Smayda, 2007)。通过形态学、同位素测定和分子生物学手段,链状裸甲藻和塔玛亚历山大藻被令人信服地推断是 100 多年前通过木材运输船从日本或东南亚国家传入澳大利亚水体的(Bolch and De Salas, 2007; Smayda, 2007)。关于甲藻孢囊与压舱水传播的关系, *Harmful Algae* 的前主编 T. Smayda 说过:“那些被认为可以通过压舱水传播的种类,无一例外的都是产孢囊(子)的。”(Smayda, 2007)。由于压舱水在生物入侵方面的可能危害和海上运输的日益增加,国际海事组织(The International Maritime Organization)2004 年 2 月发布了一个关于船舶压舱水和其舱泥的控制与管理的国际准则 *International Convention for the Control and Management of Ships' Ballast Water and Sediments*, 现正等待有足够的签约国家和地区背书后生效(现在背书的国家和地区已够合约要求但船舶总吨位不够,见 <http://www.imo.org/home.asp>)。

## 2 关于甲藻生活史和休眠孢囊研究的历史

对甲藻孢囊的研究,在 20 世纪 60 年代由 Evitt 首先肯定了沉积物中孢囊对应于水体中

活的甲藻(Evitt, 1961, 1967; Evitt and Davidson, 1964),随后伍兹霍尔海洋研究所的 Wall 和奥斯陆大学的 Dale 等通过萌发试验证明所谓的孢粉粒(hystrichospore)萌发后就是甲藻(Wall et al., 1967; Wall and Dale, 1968),这引发了很大轰动和广泛的研究兴趣。此后, Dale、Wall 和 Anderson 等的开创性工作证明,沉积物中亚历山大藻孢囊就是水体中营养细胞种群的“种子库”,孢囊的萌发即为藻华接种和起始的过程(Dale, 1977; Anderson and Wall, 1978; Anderson and Morel, 1979; Anderson et al., 1983),这成为有害藻华生态学领域里程碑式的成就。20 世纪 80 年代初以来,日本科学家 Fukuyo 和 Matsuoka 各自或合作的众多细致工作为甲藻生活史研究和使领域内认识到孢囊在有害藻华生态学中的重要性做出了巨大贡献,如孢囊与营养细胞形态学的比较与相互关系,某些种类孢囊的地理分布,特别是建立孢囊的研究方法(Matsuoka and Fukuyo, 2000)。由于上述的奠基性工作,针对甲藻生活史和孢囊的研究在过去 30 多年一直是有害藻华生态研究的热点领域(Anderson et al., 2003; Matsuoka and Fukuyo, 2003; Garcés et al., 2010; Bravo and Figueroa, 2014)。例如,2005~2008 年,欧盟和美国 NSF 联合资助了一个名为 SEED 的项目,专门研究有害藻华种类的生活史及其环境、生理和遗传调控因素,作为其成果,国际著名期刊 *Deep Sea Research Part II* 在 2010 年出版了一期藻华种类生活史的专刊(Garcés et al., 2010)。该专刊指出的最重要事实或结论包括尝试澄清前述有关概念(Bravo et al., 2010a),指出生活史各不同阶段的转换对种群动态或动力学具有深刻意义,表层沉积物中的孢囊总体(assemblage)代表了一个暂时性的物种多样性集合(a temporally integrated repertoire),孢囊“种床”(seedbeds)为藻华的监测、研究有害藻华种的地理分布和新物种的外来引入等提供了基准信息(Olli and Trunov,

2010; Satta et al., 2010)。由于每个国家藻华种类、气候条件、海洋条件、藻华研究发展水平的巨大差异,类似的工作如今仍然是国际有害藻华研究领域的重点之一,如藻华研究领域里唯一专业期刊 *Harmful Algae* 在 2014~2015 年发表的关于该主题的论文就有 50 余篇。而且,正如本文其他部分所提到的,早期研究发现或总结的任何一个现象、规律或者“相互关系”都在新的种类、地域或新的条件下获得不同程度的证实或者修正,新的现象和“关系”还在不断被发现。

我国的孢囊研究始于 20 世纪 80 年代末由齐雨藻教授主持的国家自然科学基金重大项目“中国东南沿海赤潮发生机理研究”,加之后续的国家自然科学基金重大项目和“973”项目的支持,尤其是 90 年代末期以来,对我国近海许多港湾沉积物中孢囊分布的调查,获得了许多宝贵的研究成果(Qi et al., 1996; 齐雨藻, 2003; 王朝晖, 2007)。在最早的报道中,通过形态学方法,从南海与东海诸海湾和河口鉴定了 22 种孢囊,包括有毒藻种塔玛亚历山大藻(可能即现在的太平洋亚历山大藻)、链状裸甲藻、一种旋沟藻和哈曼褐色多沟藻(*Pheopolykrikos hartmannii*)(Qi et al., 1996)。到 2011 年,从中国海域共鉴定出至少 25 属 67 种甲藻孢囊,包括产贝毒的 5 种亚历山大藻和链状裸甲藻(王艳和腾琳, 2006; 王朝晖, 2007; 顾海峰等, 2011; 王艳等, 2012; 邵红兵等, 2012)。蓝东兆和顾海峰(2014)整理出了北起鸭绿江、南至西沙群岛海域沉积物中鉴定的 91 种甲藻孢囊。特别是最近几年,通过沉积物中孢囊的萌发并建立纯培养发现了一系列新种,如 *G. microreticulatum*、*G. inusitatum*、*S. enormis*、*Azadinium dalianense*(Gu et al., 2013a, 2013b, 2013d, 2013e; Luo et al., 2013)等,这些成果为进一步深入研究提供了重要的背景资料。但已有研究大多是从沉积物中鉴定、计数

已知孢囊种类,只有很少研究是基于实验室纯培养开展的(Gu et al., 2013a, 2013b, 2013d, 2013e; Luo et al., 2013),而对中国海域危害最大(爆发频次和规模)的藻华种类,如米氏凯伦藻、东海原甲藻和剧毒卡尔藻生活史的研究我们还未见到,在野外也未发现这些种类的孢囊,虽然已有一些间接证据表明它们也可能存在休眠阶段即孢囊,如 Portune(2008)用 qPCR 方法从美国特拉华州海湾底泥中曾检测到剧毒卡尔藻的信号。目前,关于中国海域甲藻休眠孢囊的了解和认识还有大量空白,有必要开展取样站点和取样深度覆盖更加全面、种类鉴定方法更加先进准确的大规模调查:①已有研究大多是根据已有文献提供的图谱对沉积物中孢囊进行鉴定和计数,但文献报道中常常指出,新的孢囊因为没有参照且样品已固定而不能萌发而未得到明确鉴定,几乎每一个基于形态学特征的调查都有或多或少的种类无法明确鉴定。②已知有些同属不同种甚至分类关系更远的种类其休眠体的形态很相似因而被鉴定为同种属(Garcés et al., 2010)。③营养细胞个体很小的种类(<20μm)产生的孢囊的个体也必然很小,在通用的沉积物样品预处理中将极易被过大的筛网筛除,即使在处理后样品中存在一定的丰度,也因太小不易通过形态学方法观察到。④有些种类,如多环旋沟藻和红色赤潮藻的孢囊无厚壁保护(Tang and Gobler, 2012, 2015),因而在泥龄较早的沉积物中或丰度低时难以发现(例如,红色赤潮藻在中国海域十分常见,以前的所有野外调查都未曾观察、鉴定到该种类孢囊,但最近我们从采自我国海域的沉积物中成功萌发出其营养细胞)(Tang and Gobler, 2015),或已失活而不能萌发,或过于脆弱而在前处理中被破坏。况且,传统孢粉学或化石孢囊学方法在沉积物的处理过程中会用到盐酸、氢氟酸和超声波等处理,都可能破坏某些胞壁较薄或脆弱的孢囊。⑤有些孢囊因为表面光滑无

突出物或个体球形而形态高度简单不易辨别,从而在传统的形态学鉴定中被忽略。⑥在漫长的中国海岸线上分布着众多相对封闭的海湾水体,其封闭性(物理、水文或盐度差等)造成了某些浮游植物种类的局域化分布,甚至发生一定程度的物种分化(生态型分化),而已进行的调查还没有覆盖这些区域。⑦已有调查大多属于表层取样,因而对于保存在沉积物中关于我国海域甲藻区系演变的长期历史记录我们还知之甚少,以至于在判断新出现的藻华是否是外来物种入侵还是本地种的突然暴发时无据可依。⑧近期初步的分子鉴定研究表明,在我国海洋沉积物中存在为数不少的孢囊种类还从来没有被发现和描述过。尤其是,在现有的约 2300 种甲藻中(Gómez, 2012),大概只有约 200 种被发现能够产生孢囊(Matsuoka and Fukuyo, 2000; Anderson et al., 2003),即只约占 10%。一方面,每年都有新的产孢囊种类从实验室纯培养或野外样品中被发现;另一方面,绝大多数的甲藻的生活史过程还没有被研究过(Garcés et al., 2010; Bravo and Figueroa, 2014)。据此,有理由相信随着取样点在时空两个方面的扩展与分子鉴定方法精确性和全面性的提高,更多的孢囊种类将被发现,更准确的名录和分布型式(pattern)将得到揭示。在此基础上,我们才可能获得关于中国海域藻华发生、扩散与生活史、孢囊耦合关系更深入的认识。

### 3 关于孢囊形成与萌发的影响因素

通常认为,孢囊的形成主要是受到外界不利环境因素的诱导,如温度、营养盐、光照、盐度、生物之间的相互作用等,其中温度和营养盐水平是最重要的两个因素。

(1)温度。温度与浮游植物的生长、繁殖密切相关,因此一定范围的温度可能影响甲藻孢囊的形成。阿博卡氏藻(*Calciodinellum albatrosianum*)、颗粒里奥藻(*Leonella granifera*)

和 *Pernambugia tuberosa* 能生存的温度范围(分别为 12.3~30.4℃、15.5~30.7℃ 和 13.3~32.8℃)较广,但发现仅在较小的温度范围(分别为 16.1~21.7℃、18.0~24.0℃ 和 22.3~27.6℃)里能形成较多的孢囊(Meier et al., 2004)。斯氏扁甲藻(*Pyrophacus steinii*)在 27℃ 形成孢囊数量最多,较低或较高的温度除明显减少孢囊形成外,对孢囊的大小也有显著影响(Zonneveld and Susek, 2007)。此外,温度升高(在正常培养温度基础上增加 3℃)能促进 *S. hangoei* 和 *Woloszynskia halophile* 形成大量的孢囊(Kremp et al., 2009)。与上述几种藻不同,腰带多甲藻(*Peridinium cinctum*)在各种 N、P 条件下(如正常添加 N 和 P,或缺 N,缺 P,或同时缺 N 缺 P),低温(6℃)和高温(22℃)均较其他温度(10~18℃)能明显促进孢囊形成,似乎孢囊是在低温或高温胁迫下形成的(Grigorszky et al., 2006)。

(2)营养盐。一般认为,营养盐限制如 N、P,尤其是 N 限制或缺乏能促进孢囊形成。Pfiester 和 Anderson(1987)总结了 1965~1980 年有关调控甲藻(包括淡水种和海水种)孢囊形成的研究,在 14 种甲藻中,有一半甲藻孢囊的形成与营养(主要是 N、P)的耗尽或缺乏密切相关。营养盐的缺乏或限制似乎是诱导孢囊形成最有效的途径。不同 N、P 营养条件能显著影响腰带多甲藻(*Peridinium cinctum*)孢囊的形成,相较于添加 N、P,缺 N 又缺 P 时孢囊形成率最高,其次是缺 N 条件或缺 P 条件(Grigorszky et al., 2006)。*Levanderina fissa* 在缺 N 或缺 P 培养条件下均能形成孢囊,但在同时缺 N、缺 P 的条件下形成孢囊的数量最多(Shikata et al., 2008)。Figueroa 等(2011)发现,微小亚历山大藻(*A. minutum*)在缺 N 或缺 P 时均能大量形成孢囊,但缺 P 较缺 N 更有利于孢囊形成。然而,链状裸甲藻(*Gymnodinium catenatum*)在低 N、P 条件下形成的孢囊数则较缺 N、缺 P 或同时缺 N 和缺 P 多(Figueroa et

al., 2006b)。锥状斯氏藻(*S. trochoidea*)较易形成孢囊, 因此也是孢囊研究最为广泛的甲藻之一。齐雨藻等(1997)认为, N 缺乏是诱导锥状斯氏藻孢囊形成的关键因子, 而磷酸盐缺乏并不能诱导其孢囊的形成; 而曹宇等(2006)发现, 中度 N 限制(N: 50~100 $\mu$ g/L, P: 74 $\mu$ g/L)能显著促进该藻孢囊的形成, 其形成率可达 85%~99%。低  $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$  和高  $\text{NH}_4^+$  条件能促进红色赤潮藻(*A. sanguinea*)孢囊的形成(Chen et al., 2015)。事实上, 目前有关营养限制或缺乏诱导甲藻孢囊的形成关注的还是环境中(或者说是细胞外)的营养条件, 很少有研究去测定接种后培养基中 N、P 的浓度, 因此细胞的营养状态还不能简单地根据外源添加营养的量来判断。细胞的营养状态取决于环境中营养的多寡, 但也不完全取决于环境中营养的含量, 更与细胞的营养储存能力相关。Kremp 等(2009)研究了环境因子、细胞内部营养状态与孢囊形成的关系, 发现环境中 N 的消耗以致随后引起的细胞内部 N 胁迫是 *G. corollarium* 孢囊形成的主要因素, 对于 *Woloszynskia halophila* 来说, N 限制诱导该种群转变成小体积细胞(推测为配子), 但是这个过程并没有进一步发展形成孢囊, 然而 P 胁迫与这 3 种甲藻中任何一种孢囊的形成没有直接联系(Kremp et al., 2009)。但是, 在野外和实验室纯培养研究中, 营养充足的条件下, 某些甲藻也能形成大量的孢囊。在 *A. tamarense* 藻华后期, 水体中营养盐含量仍然较高, 却有大量孢囊形成(Anderson et al., 1983)。实验室纯培养的 *S. cf. lachrymose* 在完全的 f/2 培养基条件下, 其孢囊形成率可达 100%(Olli and Anderson, 2002)。可见, 营养条件如何影响孢囊形成是个非常复杂的过程, 现在还不能做任何简单的一般性结论。

(3)光照。光照在浮游植物进行光合作用过程起着非常重要的作用, 因此与浮游植物的生长、代谢和繁殖等过程密切相关。在

25~250 $\mu$ E/( $\text{m}^2\cdot\text{s}$ ) 光强条件下, 斯氏扁甲藻(*Pyrophacus steinii*)孢囊形成的数量随光强的升高而增加, 当光强为 70 $\mu$ E/( $\text{m}^2\cdot\text{s}$ )时, 形成的孢囊数量最多, 随着光强的进一步升高, 孢囊形成数量逐渐降低(Zonneveld and Susek, 2007)。除此之外, 光周期也即光照时间的长短对 *S. trochoidea* var. *aciculifera*、*Pentaparsodinium tyrrhenicum*、*Calciodinellum operosum* 和 *S. rotunda* 孢囊的形成有一定影响(Sgrosso et al., 2001)。

(4)盐度。盐度对孢囊的形成也可能产生影响, 但是目前有关此方面的报道极少。在盐度为 25~45 时, 斯氏扁甲藻(*P. steinii*)孢囊形成的数量随盐度的升高而增加, 当盐度为 35 时, 形成孢囊数量最多, 随着盐度的进一步升高, 孢囊形成数量逐渐降低(Zonneveld and Susek, 2007)。但对某些种, 如红色赤潮藻, 盐度的改变似乎对孢囊产率完全没有影响(Tang and Gobler, 2015)。

(5)其他生物的影响。细菌可以诱导 *Lingulodinium polyedrum* 形成暂时性孢囊(Mayali et al., 2007)。3 种有毒藻塔玛亚历山大藻、米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)和 *Chrysochromulina polylepis* 产生的化感物质不仅能对锥状斯氏藻产生致死作用, 还能诱导其形成暂时性孢囊, 以度过短期的不良环境条件(Fistarol et al., 2004)。锥状斯氏藻还能被寄生性甲藻 *Amoebophrya* sp. 的存在诱导形成孢囊以逃避寄生甲藻的侵害(Chambouvet et al., 2011)。寄生性 *Parvilucifera infectans*(Perkinsea 纲)也可诱导 *Alexandrium ostenfeldii* 形成暂时性孢囊(Toth et al., 2004)。Uchida 等(2001)认为, 增加 *Levanderina fissa* 合子(zygote)与其他营养细胞之间的接触, 可以促进合子进一步形成孢囊。

(6)其他因素。细胞之间的碰撞频率可能成为孢囊形成的诱导因素, 如 Uchida 等(2001)发现, 锥状斯氏藻和条纹环沟藻(*Gymnodinium*

*instriatum*=*Levanderina fissa*) 在细胞碰撞少时诱导细胞分裂, 但碰撞频率高时则诱导孢囊形成。各种胁迫作用, 如低温刺激(如放置于冰上)、机械震荡(离心)、化学物质暴露(皂角苷和  $H_2O_2$  等) 均能诱导微小亚历山大藻(*A. minutum*) 形成暂时性孢囊(Haberkorn et al., 2011)。另外  $H_2O_2$  和 NO 能诱导 *Lingulodinium polyedrum* 形成孢囊(Ganini et al., 2013)。

孢囊的萌发同时受到内因和外因的调控。内因主要是指强制休眠期(mandatory dormancy)或者细胞自身的生物节律。一般说来, 对于刚刚形成的孢囊, 在生理上能萌发之前必须经历一段强制休眠期(Kremp and Anderson, 2000)。对于不同的种类来说, 强制休眠期的长短差异较大, 如 12h 至 12 个月(Pfister and Anderson, 1987)。对于同一个种, 如果保存条件发生变化, 休眠期的长短也不一样(Anderson, 1980)。另外, 有些专家认为, 孢囊休眠期的长短与藻华的出现显著相关, 休眠期长的物种一年内只能出现 1 次或 2 次藻华, 而那些能在短时间内萌发的种类, 会在一个季节内多次形成藻华(肖咏之等, 2001)。也有根据野外采得的孢囊进行萌发实验的结果表明, 萌发与否和萌发多少似乎并不取决于一个强制休眠期(Moore et al., 2015)。但是, 所谓“强制休眠期”到底是遗传上(或基因水平上)真实存在的(真的“强制休眠期”), 还是表现上存在的一种生理状态(即可逆的、可塑的)且更大程度上决定于外部环境条件还值得深入研究。

当孢囊经历了强制休眠期后, 外界环境条件对萌发过程就起着更重要的作用。已有研究表明, 温度是孢囊萌发最主要的调控因素(Bravo and Figueroa, 2014; Moore et al., 2015)。但其他因素, 如营养盐、光照、溶解氧浓度等也具有不同程度的作用(齐雨藻等, 1997; 王朝晖, 2007; Moore et al., 2015)。例如, Mardones 等(2016)发现, 链状亚历山大藻(*A.*

*catenella*) 孢囊萌发和萌发后营养细胞的生长按照影响力顺序依次为盐度、光强、温度和营养水平。

(1) 温度。首先, 温度可能影响到孢囊的休眠期。例如, 在  $4^{\circ}\text{C}$  休眠的塔玛亚历山大藻孢囊需经过 4~6 个月才能完成生理成熟阶段, 而在温暖的环境中这个过程可缩短至 3 个月或更短(Anderson, 1980)。Kremp 和 Anderson (2000) 发现, *S. hangoei* 孢囊在温度为  $-0.7^{\circ}\text{C}$  时的萌发率为 29%,  $0.5\sim 4^{\circ}\text{C}$  时萌发率为 90% 以上, 而  $4\sim 8^{\circ}\text{C}$  时萌发率迅速降低,  $8^{\circ}\text{C}$  以上时萌发过程则被完全抑制了。沉积物中分离的条纹环沟藻(*Gyrodinium instriatum*=*Levanderina fissa*) 孢囊在  $10\sim 30^{\circ}\text{C}$  条件下均能萌发, 但是在低温条件下萌发时间延长(Shikata et al., 2008)。锥状斯氏藻、塔玛亚历山大藻(*A. tamarense*) 和链状亚历山大藻(*A. catenella*) 孢囊的萌发也与温度密切相关(顾海峰等, 2003)。Accoroni 等(2014, 2015)发现, 有毒甲藻(*Ostreopsis cf. ovata*) 孢囊的萌发取决于  $25^{\circ}\text{C}$  的临界水温。但 Moore 等(2015)对采自沉积物的亚历山大藻孢囊在实验室与采样点底部水同样的温度下萌发发现, 萌发率却与温度不相关, 而是与水体条件是否适合营养生长相关, 并推测可能存在一个所谓的“次级休眠(secondary dormancy)”, 即外部条件不适合营养生长时, 孢囊不会萌发。

(2) 光照。孢囊的萌发对黑暗或不同光照水平的反应存在显著差异。*Gonyaulax polyedra* 孢囊需要光照才能萌发, 塔玛亚历山大藻、斯氏藻(*Scrippsiella* sp.) 和 *Gonyaulax verior* 3 种孢囊有光照时的萌发率是黑暗条件下的 5~20 倍, *G. rugosum* 黑暗与光照条件下都有较高的萌发率(Anderson et al., 1987)。在一定的光强(如  $600\sim 7500\text{lx}$ ) 下, 锥状斯氏藻孢囊的萌发率均在 80%~90%, 且高光强(如  $7500\text{lx}$ ) 还可缩短萌发时间(齐雨藻等, 1997)。顾海峰等(2003)发现, 光照对海洋底泥中采集到的塔玛亚历

山大藻(*A. tamarense*)和链状亚历山大藻(*A. catenella*)孢囊的萌发没有影响。

(3)溶解氧。溶解氧对孢囊萌发也有一定影响。缺氧条件下, *S. hangoei* 孢囊不能萌发, 当溶解氧达 15%~20%饱和度时, 足够支持孢囊的萌发。塔玛亚历山大藻和链状亚历山大藻孢囊也需一定的溶解氧才能萌发, 当溶解氧低至 0.01mg/L 时, 孢囊不能萌发(顾海峰等, 2003)。但 Rengefors 和 Anderson(1998)发现, *Ceratium hirundinella* 孢囊可在严重低氧(5%饱和度)的条件下萌发且萌发率与正常氧浓度的对照组无显著差别。

(4)其他因素。此外, 不同季节采集的孢囊萌发的调控因素也表现出明显差别, 如 Ishikawa 和 Taniguchi(1994)发现, 在野外, 斯氏藻(*Scrippsiella* spp.)在冬天的萌发受控于低温, 而在夏季则可能受控于低 DO 和孢囊年龄。Moore 等(2015)也发现, 亚历山大藻孢囊是否萌发很大程度上取决于采样时水体的环境是否适合营养生长。

孢囊形成和萌发过程涉及非常复杂的调控因素, 尤其是孢囊的形成过程, 不同种类甲藻的孢囊形成诱因存在很大差异。即使对于同一个种的不同种群和株系, 孢囊形成的诱因也可能不同, 如磷酸盐限制常导致泰勒亚历山大藻(*A. taylori*)形成“暂时性孢囊”, 而硝酸盐限制则有利于其“休眠孢囊”的形成(Figueroa et al., 2006b)。甚至同一株系的藻培养于同样条件下, 在一个培养板的不同孔中孢囊形成的多少也有很大差别(Tang and Gobler, 2015)。对有的种类, 如多环旋沟藻(*C. polykrikoides*)和红色赤潮藻, 上述因素固然都可能影响, 但很难总结出一般性规律, 也未找到一个确定以某种方式或方向发生作用的因素(Tang and Gobler, 2012, 2015)。导致种间或种内不同生态型的孢囊形成控制因素的差异可能是由于种内不同种群适应策略的特化(Figueroa et al., 2011)。由于迄今为止的大量研

究还仅仅限于少数几个门类, 如亚历山大藻(*Alexandrium* spp.)和斯氏藻(*Scrippsiella* spp.)等, 我们得到的认识还很难一般化。只有同时在生理学水平和分子水平深入研究这些过程中涉及的基因和在转录、翻译、代谢水平的调控, 才可望对孢囊形成和萌发过程获得较为全面的认识。

#### 4 关于生活史阶段转换、孢囊形成与萌发的分子机制

随着对藻华发生机制研究的深入, 在分子水平上对甲藻的研究自 20 世纪 90 年代以来逐渐增多(丁德文等, 2005)。分子手段的最初引入主要集中于利用核糖体大小亚基基因(28S 或 LSU rDNA、18S 或 SSU rDNA)的部分序列和两者之间的转录间隔区(ITS rDNA)序列对孢囊进行分子鉴定, 这些工作对准确鉴定形态特征不明显或易混淆, 或低丰度, 或难以培养的异养型甲藻等孢囊种类具有重要价值(Bolch, 2001; Godhe et al., 2002)。另外, 基于特异性寡核苷酸分子探针的荧光定量 PCR 和荧光原位杂交等技术也被较多地用来快速鉴定和检测自然环境底泥中的孢囊, 其也为相关海域藻华的早期预警提供了手段。随着高通量测序技术的革新和普及, 基因组学及最近这些年蓬勃发展起来的转录组学、蛋白组学、代谢组学在甲藻藻华生态学领域得到越来越广泛的应用(Anderson et al., 2012; Lin et al., 2015; Murray et al., 2016)。对甲藻不同生理状态和适应策略涉及的功能基因、代谢通路和分子调控的研究在进入 21 世纪以来快速增多。由于甲藻基因组太过庞大(3~245 Gb)(Lin, 2011), 有关研究一般从转录组而非基因组展开, 涉及的转录本包括不同的营养状态(Morey et al., 2011; Xiang et al., 2015; Cooper et al., 2016)、不同环境胁迫(Lowe et al., 2011; Guo et al., 2016)、毒素合成(Erdner and Anderson, 2006; Uribe et al., 2008; Yang et al., 2010;

Jaeckisch et al., 2011; Zhang et al., 2014)、虫黄藻与珊瑚共生关系(Rodriguez-Lanetty et al., 2006; Bayer et al., 2012)等。国内还有团队直接从蛋白组学开展有关功能基因的研究(Wang et al., 2012, 2013a, 2013b),但所有这些转录组和蛋白组学的研究都未涉及与甲藻生活史和孢囊形成、萌发过程有关的基因。然而,2015年厦门大学林森杰教授领导的团队报道了第一个甲藻基因组即,虫黄藻(*Symbiodinium kawagutii*)的基因组(Lin et al., 2015)。这些功能基因序列和注释信息为今后分析与孢囊形成和萌发过程有关的分子机制提供了重要基础。目前,虽然对影响孢囊形成和萌发的环境因素的工作已取得重要进展,但对该过程涉及的功能基因只见于极有限的报道。值得特别指出的是,在这两种虫黄藻 *Symbiodinium minutum* 和 *S. kawagutii* 基因组中发现了与有性生殖、孢子形成和萌发和端粒(telomeres)合成相关的基因,并推测这些基因也可能参与孢囊形成(Lin et al., 2015)。我们曾发现,在红色赤潮藻(*A. sanguinea*)休眠孢囊的形成中伴随着一种热休克蛋白(Heat shock protein 70)的上调表达(Deng et al., 2015),但需要更多的工作证明该基因是否与孢囊形成直接相关。简而言之,专门研究甲藻孢囊形成和萌发的分子调控机制和信号响应关系的报道尚未见到。

如果我们相信所有生物在最基本的生物学过程上的统一性,还考虑到甲藻的休眠孢囊在功能上与高等植物种子的相似性(如强制休眠,萌发等),则有关高等植物种子休眠过程已有的认识,特别是有关植物激素的结果就可能为我们提供重要的思考起点。高等植物种子休眠的启动和解除主要由种子内源组分响应外界环境因子和内源生理变化,通过下游信号传导和基因级联表达最终引发生理效应(McCarty, 1995)。若干植物激素作为内源信号分子,通过调节基因表达和细胞信号转导参与调控高等植物种子休眠和萌发过程

(Koornneef et al., 2002; Ali-Rachedi et al., 2004; Kucera et al., 2005; Footitt et al., 2011),常见的包括生长素(auxin)、脱落酸(abscisic acid, ABA)、赤霉素(gibberellin, GA)、细胞分裂素(cytokinin, CK)和乙烯(ethylene, ET)等。对多种高等植物的研究表明,ABA有诱导和维持种子休眠及抑制种子萌发的作用;而GA与种子打破休眠和促进萌发有关(Koornneef et al., 2002; Ali-Rachedi et al., 2004; Kucera et al., 2005; Footitt et al., 2011)。ABA和GA含量的动态平衡是调控高等植物种子休眠进程的关键要素,其他激素主要通过影响ABA或者GA含量而发挥作用(Kucera et al., 2005; Footitt et al., 2011)。对ABA和GA合成和分解代谢及相关基因的研究进一步明确了它们作为内源信号分子对种子发育的关键调控作用(Kucera et al., 2005; Nambara and Marion-Poll, 2005; Yamaguchi, 2008)。9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶(9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, NCED)是高等植物ABA间接合成途径中最关键的限速酶,其表达量的变化直接影响内源ABA含量(Schwartz et al., 1997; Thompson et al., 2000; Lefebvre et al., 2006)。在拟南芥中NCED是诱导休眠所必需的基因(Lefebvre et al., 2006),番茄中NCED基因的过量表达也导致内源ABA迅速积累和种子休眠增强(Thompson et al., 2000)。脱落酸-8'-羟化酶(ABA-8'-hydroxylase, ABAH)是高等植物内源ABA分解途径中的关键酶(Saito et al., 2004; Millar et al., 2006),通过快速有效地调节内源ABA降解,进而间接参与调控种子休眠和萌发(Millar et al., 2006; Okamoto et al., 2006)。拟南芥ABAH基因突变体种子中内源ABA含量较野生型提高了6倍,同时伴随着种子萌发率显著降低(Okamoto et al., 2006)。高等植物中GA通过前馈和反馈调节维持内源含量平衡,其中主要通过调控GA合成途径中关键酶的活性进行作用(Hedden and Phillips,

2000; Olszewski et al., 2002)。GA-20 氧化酶 (GA-20 oxidase, GA20ox) 是 GA 生物合成途径中重要的限速酶之一, 表达受到转录水平上的反馈调节和环境因素的影响 (Sakamoto et al., 2004)。拟南芥中 GA20ox 基因引起内源 GA 含量升高 (Huang et al., 1998; Coles et al., 1999)。

逻辑上, 甲藻休眠孢囊的形成和萌发过程也应该是外源环境因素、内源生理变化、信号分子(植物激素)与基因表达等协同作用、共同调控的结果。因此, 利用多组学(转录组学、蛋白组学和表观遗传学等), 结合生理过程, 以联合分析休眠孢囊形成和萌发的关键过程, 比较营养细胞和孢囊形成、萌发不同阶段的 mRNA 和 miRNA 表达谱、蛋白谱的差异, 筛选可能参与孢囊形成和萌发的关键通路和重要的功能基因, 将为我们明确调控甲藻营养细胞和休眠孢囊相互转化的关键“开关”基因(家族), 深入认识调控甲藻休眠孢囊形成和萌发的内在分子机制提供了巨大的可能性。由于前述的甲藻基因组的特殊性(基因组太大)和特殊的生理学要求(如必须液相培养、对盐度的要求等), 如何在现有的技术条件下确证任何一个基因的功能还是一个巨大的挑战 (Murray et al., 2016)。但是, 应用原位杂交、荧光定量 PCR、双荧光素酶报告系统等手段, 研究营养细胞和孢囊相互转化过程中关键基因的表达时序, 以推测其潜在功能, 对探讨孢囊形成和萌发关键过程的分子机制、明确关键分子通路对环境因子扰动的响应过程都是可行的途径。

## 5 结语和展望: 认识的空白和冲突与可能的机会和突破

将甲藻生活史和孢囊作为有害藻华生态学研究的一个热点研究对象, 研究常见甚至潜在藻华类甲藻是否和如何产生休眠孢囊、在海洋沉积物中是否存在及其丰度、休眠孢囊形

成和萌发的外在环境影响因素和内在生理生化与分子机理, 目的还是在于回答不同形式和阶段的生活史及孢囊在各个种类有害藻华发生、发展、消亡、地理扩散中的作用, 以及我们如何最终应用获得的从宏观到分子水平的认识对藻华开展快速、实时监测、预警、预报、控制。因此, 有关研究是有害藻华发生、发展和地理扩散机制, 以及灾害预测防控的一个非常重要的研究方向, 同时还将为气候变化、环境变迁对海洋生态系统及浮游植物影响的研究、生物地理学、海洋生物资源探索等领域提供重要的基础资料或参照。目前, 对于甲藻, 尤其是少数重要的能引起有害藻华的种类, 我们已经获得关于其生活史很多重要的认识, 但就整体而言, 从最基本的概念到藻华现场的实际过程与格局, 仍然还有许多认识空白, 正是这些认识空白才为今后的研究提供了方向和机会。

第一, 已经证明产休眠孢囊的种类(大约 200 种)只占甲藻有效描述种类 2300 余种的不超过 10%, 还有很多类群(科或属, 如凯伦藻科)从未曾有单个种类发现或证实产孢囊, 尽管其中有些种类是世界性分布种类甚至暴发造成巨大危害的有害藻华, 如米氏凯伦藻、东海原甲藻、剧毒卡尔藻等。据报道, 有些种类可以形成孢囊或者从沉积物中“鉴定”出孢囊(如微小原甲藻和两种鳍藻, *Dinophysis*), 但可靠性还是值得怀疑的。即使是某些已经通过实验室培养证明存在有性生活史和产孢囊的种类, 也还需在藻华发生海域沉积物中寻找和证明其确实存在和探明其分布、丰度和动态规律。最近几年, 每年都有若干新的种类甚至很常见的种类和类群(如红色赤潮藻、多环旋沟藻、斯氏藻、裸甲藻等)被证实能够形成休眠孢囊, 使我们相信还有更多种类的孢囊等待被发现。发现、证明任何一个重要的藻华种能够形成休眠孢囊, 都会为藻华的种源、形成、年际复发、地理扩散提供更深入的认识和机理性解释,

也为后续基于孢囊分布和丰度的藻华预测及防控研究提供科学依据。与此相关的问题还有如曾经在世界其他海域形成大规模或严重危害的藻华种类,如短凯伦藻(*K. brevis*)、*Pfiesteria piscicida* 等是否在中国海域存在;瑞典湾 100 年龄的厚壁孢囊仍然存活的事实(Ellegaard et al., 2008)说明,我们在调查孢囊分布时不能仅仅研究表层几个厘米的样品,应该将研究扩展到更长的时间尺度。鉴于此,我们认为,通过野外深度检测和调查工作,获得通过沉积物保留下来的中国海域甲藻的区系演变与分布特征的准确、全面、深入的认识,将为不同海域可能暴发的有害藻华提供重要的预警性资料,为研究过去或未来可能的外来物种入侵提供全面的基础参照数据,也为研究气候与环境演变对海洋浮游植物区系甚至海洋生态系统的影响提供支持数据。

第二,关于通过压舱水可能传入中国海域的甲藻或其他藻华种类的研究在我国还只有很零星的报道,主要因为中国的港口、船舶管理涉及若干部门,登船取样面临众多困难。但这是一个很重要的研究领域,也对我们的海洋生态安全甚为重要,应该开展更深入的研究。与此相关的具体课题例如:在日本、韩国、马来西亚、菲律宾、美国、加拿大、阿拉伯海湾等海域经常形成大规模有毒藻华的多环旋沟藻和褐色旋沟藻(*Cochlodinium fulvescens*)也在中国形成规模不等的藻华,那么它们是中国原生种类还是通过船舶压舱水外源输入的种类?如果是中国的本地种,为何只在近些年才发生或观察到藻华?再如,压舱水作为休眠孢囊携带者的发现使人容易相信,只要是产休眠孢囊的种类,就一定是到处可见的广谱种,但实际情况可能远不是这样。已有的证据表明,即使是很容易形成孢囊且孢囊也易于在沉积物中保存的种类,它们仍然有自己独特的“生物地理”,所以压舱水与我国海域的沉积物样品的对比研究,将为

我们提供现在还难以预计的但无疑很有价值的科学认识。国际上已有不少国家,如澳大利亚、新西兰、加拿大、美国、新加坡等从立法、政府管理、工业企业到研究部门形成了紧密合作的工作和研究体系。中国是上述《准则》最早的背书国之一,也是最早的五个“试点”国家之一,现有的研究力度与我们的海岸线长度、国际海运规模和藻华种类入侵可能造成的危害强度等都还很不相称。

第三,关于甲藻生活史、孢囊的形成和萌发,以及孢囊丰度与藻华规模的关系,我们现在发现的每一个现象或“规律”,似乎都有在规律之外的“逸出者”。实际上,对任何一个种,我们都不明确是什么因素和以何种方式诱导了生活史各阶段的转化(如配子形成、孢囊的形成与萌发)。例如,营养缺乏或者温度遽变可能大多数时候都能诱导某个种形成孢囊,但对另一个种就见不到这样的即时反应。一个已经证明能够产休眠孢囊的藻华种类,与其种群动力学和藻华发生紧密相关的问题有孢囊产率、孢囊休眠期长短、萌发能力(excystment success)、有性后代的存活能力(offspring viability)、不同株系有性结合的相容性(mating compatibility)等众多因素,每一个因素的变异都可能带来另一个因素的规律“失效”。不同的研究者关于沉积物孢囊丰度与藻华频率和规模相关性的结论有时互相支持,也可能完全相反。不仅是物种的多样性带来了功能的或行为的多样性,即使同一个物种的不同种群也会在不同的生境下表现不同,从而每一个“规律”必然伴随非常多的限制条件。因此,我们对每一个重要的种类,都必须进行具体的“个案”研究。人们已经开始将获得的特定条件下孢囊丰度与下一个藻华规模的经验数量关系整合进数值模型中,以尝试描述、拟合、预测(报)藻华的起始、维持、衰减等过程。但是,现阶段对这样的模型还不能期望过高,还必须考虑加入更多的参数或者为已有参数准备适

应不同条件的更多“版本”。同时,虽然在技术上具有很大的挑战性,还应该尝试在野外开展与生活史有关问题的探索,如什么条件下配子形成、孢囊形成、孢囊萌发、细胞薄层现象(thin-layer)及其生活史意义等,因为现有的有关生活史的研究基本上都是在实验室完成的,而野外的细胞成层现象不可能在实验室的培养瓶里观察到。

第四,关于甲藻生活史过程中的信号分子与分子生物学,因为技术上的困难,相较于高等植物甚至其他藻类,有关的研究还处于“婴儿”阶段。但我们想要特别指出的是,孢囊形成和萌发过程中任何一个关键基因功能的阐明都不仅仅是关于甲藻基础生物学的进步,同时也将为我们认识孢囊分布、生理状态与藻华形成的关系,建立藻华监测体系、种群增长和消减的预测模型等提供重要的理论依据和应用工具。而且,某些“从小处着手”的研究也在生态学和应用上很有意义。例如,研究、设计各种特异性分子探针,分别鉴定、检测生活史不同阶段的配子、运动合子、不动合子(孢囊)和减数分裂细胞等。研究表明,*S. lachrymosa*的配子含有特征性糖缀合物(glycoconjugates)(Kremp and Anderson, 2004),或许据此可以获得特异性抗体,然后进行荧光免疫反应检测。如果能获得这类分子工具,将在自然条件下的各种界面,如泥-水界面或藻华发展阶段示踪种群动态中特别有用(Steidinger, 2010)。再如,信号的接受与处理可以认为是内外信号分子(infochemicals)或者细胞密度作为种群响应的调控者的“反馈环”(feedback loops)(Steidinger, 2010)。鉴别这些信号分子及作用机制在种群动态和藻华发展的各个阶段都很重要。孢囊形成和萌发与否固然是单个孢囊的反应,但也是整个种群水平的指示,认识这些过程中信号分子的反馈环和在哪里它们短路,将为可能的藻华应急处置提供思路。

**致谢** 本文作者特别感谢两位匿名审稿人的建设性意见。

## 参 考 文 献

- 曹宇, 张玉娟, 王朝晖. 2006. 氮磷限制对锥状斯氏藻孢囊形成的作用. 生态科学, 25(1): 17-20
- 丁德文, 刘胜浩, 刘晨临, 等. 2005. 孢囊及其与赤潮爆发关系的研究进展. 海洋科学进展, 23(1): 1-10
- 顾海峰, 蓝东兆, 方琦, 等. 2003. 我国东南沿海亚历山大藻休眠孢囊的分布和萌发研究. 应用生态学报, 14(7): 1147-1150
- 顾海峰, 刘婷婷, 蓝东兆. 2011. 中国沿海甲藻孢囊研究进展. 生物多样性, 19(6): 779-786
- 顾海峰, 孙军, 邹迎麟, 等. 2006. 厦门港纤小裸甲藻(*Takayama pulchellum*)的形态、生长及分子特征. 生态学报, 26(4): 1021-1027
- 蓝东兆, 顾海峰. 2014. 中国近海甲藻孢囊. 北京: 科学出版社
- 齐雨藻. 2003. 中国沿海赤潮. 北京: 科学出版社
- 齐雨藻, 郑磊, 汪蓉. 1997. 锥状斯氏藻生活史及其生理生态调控. 海洋与湖沼, 28(6): 588-593
- 邵红兵, 石雅君, 刘东艳. 2012. 北黄海中部及四十里湾海域甲藻孢囊种类多样性研究. 海洋通报, 31(5): 557-565
- 王朝晖. 2007. 中国沿海甲藻孢囊与赤潮研究. 北京: 海洋出版社
- 王红霞, 陆斗定, 黄海燕, 等. 2011. 东海剧毒卡尔藻的形态特征及其系统进化分析. 植物学报, 46(2): 179-188
- 王艳, 黄琳, 顾海峰, 等. 2012. 中国渤海海域甲藻孢囊的种类多样性和生态地理分布. 植物学报, 47(2): 125-132
- 王艳, 腾琳. 2006. 2004年春季长江口海域甲藻孢囊的分布研究. 生态科学, 25(2): 131-134
- 肖咏之, 齐雨藻, 王朝晖, 等. 2001. 大亚湾海域锥状斯氏藻赤潮及其与孢囊的关系. 海洋科学, 25(9): 50-54
- 徐娜, 逢少军, 刘峰. 2012. 一株桑沟湾赤潮藻的分子鉴定. 海洋科学, 36(4): 13-18
- 余文翎, 龙华, 王红霞, 等. 2011. 我国东海藻华新记录种多环旋沟藻赤潮事件分析. 海洋开发与管理, 28(11): 66-88
- 张秀芳, 刘永健. 2007. 东海原甲藻 *Prorocentrum donghaiense* Lu 生物学研究进展. 生态环境, 16(3): 1053-1057
- 周成旭, 孙雪, 冯婧, 等. 2008. 源于中国东海的有毒裸甲藻 *Karlodinium micrum* 的显微观察和分子鉴定. 海洋通报, 27(3): 32-37
- 周名江, 于仁成. 2007. 有害赤潮的形成机制、危害效

- 应与防治对策. 自然杂志, 29(2): 72-77
- 周名江, 朱明远. 2006. “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, 21(7): 673-679
- Accoroni A, Glibert P M, Pichierri S, et al. 2015. A conceptual model of annual *Ostreopsis cf. ovata* blooms in the northern Adriatic Sea based on the synergic effects of hydrodynamics, temperature, and the N: P ratio of water column nutrients. Harmful Algae, 45: 14-25
- Accoroni A, Romagnoli T, Pichierri S, et al. 2014. New insights on the life cycle stages of the toxic benthic dinoflagellate *Ostreopsis cf. ovata*. Harmful Algae, 34: 7-16
- Agriculture, Fisheries, and Conservation Department (AFCD). 2008. Harmful Marine Microalgae in Hong Kong. Hong Kong: Agriculture, Fisheries and Conservation Department (AFCD)
- Ali-Rachedi S, Bouinot D, Wagner M H, et al. 2004. Changes in endogenous abscisic acid levels during dormancy release and maintenance of mature seeds: studies with the Cape Verde Islands ecotype, the dormant model of *Arabidopsis thaliana*. Planta, 219(3): 479-488
- Anderson D M, Cembella A D, Hallegraeff G M. 2012. Progress in understanding harmful algal blooms: Paradigm shifts and new technologies for research, monitoring, and management. Annual Review of Marine Science, 4: 143-176
- Anderson D M, Chisholm S W, Watras C J. 1983. Importance of life cycle events in the population dynamics of *Gonyaulax tamarensis*. Marine Biology, 76(2): 179-189
- Anderson D M, Fukuyo Y, Matsuoka K. 2003. Cyst methodologies//Hallegraeff G M, Anderson D M, Cembella A D. Manual on Harmful Marine Microalgae. Manual and Guides IOC, UNESCO: 165-189
- Anderson D M, Keafer B A, Kleindinst J L, et al. 2014. *Alexandrium fundyense* cysts in the Gulf of Maine: long-term time series of abundance and distribution, and linkages to past and future blooms. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 103: 6-26
- Anderson D M, Morel F M M. 1979. The seeding of two red tide blooms by the germination of benthic *Gonyaulax tamarensis* hypnocysts. Estuarine and Coastal Marine Science, 8(3): 279-293
- Anderson D M, Stock C A, Keafer B, A et al. 2005. *Alexandrium fundyense* cyst dynamics in the Gulf of Maine. Deep Sea Research Part II, 52: 2522-2542
- Anderson D M, Taylor C D, Armbrust E V. 1987. The effects of darkness and anaerobiosis on dinoflagellate cyst germination. Limnology and Oceanography, 32(2): 340-351
- Anderson D M, Wall D. 1978. Potential importance of benthic cysts of *Gonyaulax tamarensis* and *G. excavata* in initiating toxic dinoflagellate blooms. Journal of Phycology, 14(2): 224-234
- Anderson D M. 1980. Effects of temperature conditioning on development and germination of *Gonyaulax tamarensis* (Dinophyceae) hypnozygotes. Journal of Phycology, 16(2): 166-172
- Anderson D M. 1989. Toxic algal blooms and red tides: a global perspective//Okaichi T, Anderson D M, Nemoto T. Red Tides: Biology, Environmental Science and Toxicology. New York: Elsevier: 11-16
- Bayer T, Aranda M, Sunagawa S, et al. 2012. *Symbiodinium* transcriptomes: genome insights into the dinoflagellate symbionts of reef-building corals. PLoS One, 7: e35269
- Blackburn S I, Bolch C J S, Haskard K A, et al. 2001. Reproductive compatibility among four global populations of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae). Phycologia, 40(1): 78-87
- Bolch C J S, De Salas M F. 2007. A review of the molecular evidence for ballast water introduction of the toxic dinoflagellates *Gymnodinium catenatum* and the *Alexandrium* “tamarensis complex” to Australasia. Harmful Algae, 6(4): 465-485
- Bolch C J S. 2001. PCR protocols for genetic identification of dinoflagellates directly from single cysts and plankton cells. Phycologia, 40(2): 162-167
- Bravo I, Figueroa R I, Garcés E, et al. 2010a. The intricacies of dinoflagellate pellicle cysts: the example of *Alexandrium minutum* cysts from a bloom-recurrent area (Bay of Baiona, NW Spain). Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 57(3-4): 166-174
- Bravo I, Figueroa R I. 2014. Towards an ecological understanding of dinoflagellate cyst functions. Microorganisms, 2(1): 11-32
- Bravo I, Fraga S, Figueroa R I, et al. 2010b. Bloom dynamics and life cycle strategies of two toxic dinoflagellates in a coastal upwelling system (NW Iberian Peninsula). Deep-Sea Research Part II:

- Topical Studies in Oceanography, 57(3-4): 222-234
- Brosnahan M L, Kulis D M, Solow A R, et al. 2010. Outbreeding lethality between toxic Group I and nontoxic Group III *Alexandrium tamarense* spp. isolates: predominance of heterotypic encystment and implications for mating interactions and biogeography. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 57 (3-4): 175-189
- Chambouvet A, Alves-de-Souza C, Cuff V, et al. 2011. Interplay between the parasite *Amoebophrya* sp. (Alveolata) and the cyst formation of the red tide dinoflagellate *Scrippsiella trochoidea*. Protist, 162(4): 637-649
- Chen T T, Liu Y, Song S Q, et al. 2015. The effects of major environmental factors and nutrient limitation on growth and encystment of planktonic dinoflagellate *Akashiwo sanguinea*. Harmful Algae, 46: 62-70
- Coles J P, Phillips A L, Croker S J, et al. 1999. Modification of gibberellin production and plant development in *Arabidopsis* by sense and antisense expression of gibberellin 20-oxidase genes. The Plant Journal, 17(5): 547-556
- 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
- Cosgrove S, Rathaille A N, Raine R. 2014. The influence of bloom intensity on the encystment rate and persistence of *Alexandrium minutum* in Cork Harbor, Ireland. Harmful Algae, 31: 114-124
- Dale B, Thorsen T A, Fjells A. 1999. Dinoflagellate cysts as indicators of cultural eutrophication in the Oslofjord, Norway. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 48(3): 371-382
- Dale B. 1977. Cysts of the toxic red-tide dinoflagellate *Gonyaulax excavata* (Braarud) Balech from Oslo-fjorden, Norway. Sarsia, 63(1): 29-34
- Dale B. 2001. The sedimentary record of dinoflagellate cysts: looking back into the future of phytoplankton blooms. Scientia Marina, 65(Suppl. 2): 257-272
- Deng Y Y, Hu Z X, Zhan Z F, et al. 2015. Differential expressions of an Hsp70 gene in the dinoflagellate *Akashiwo sanguinea* in response to temperature stress and transition of life cycle and its implications. Harmful Algae, 50: 57-64
- Diaz P A, Molinet C, Seguel M, et al. 2014. Coupling planktonic and benthic shifts during a bloom of *Alexandrium catenella* in southern Chile: implications for bloom dynamics and recurrence. Harmful Algae, 40: 9-22
- 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
- Estrada M, Solé J, Anglés S, et al. 2010. The role of resting cysts in *Alexandrium minutum* population dynamics. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 57(3-4): 308-321
- Evitt W R, Davidson S E. 1964. Dinoflagellate studies I. Dinoflagellate cysts and thecae. Stanford University, Publications, Geological Sciences, 10(1): 1-12
- Evitt W R. 1961. Observations on the morphology of fossil dinoflagellates. Micropaleontology, 7(4): 385-420
- Evitt W R. 1967. Dinoflagellate studies II. The archeopyle. Stanford University Publications, Geological Sciences, 10(3): 1-83
- Figueroa R I, Bravo I, Garcés E. 2006a. Multiple routes of sexuality in *Alexandrium taylori* (Dinophyceae) in culture. Journal of Phycology, 42(5): 1028-1039
- Figueroa R I, Bravo I, Garcés E, et al. 2006b. Nuclear features and effect of nutrients on *Gymnodinium catenatum* (dinophyceae) sexual stages. Journal of Phycology, 42(1): 67-77
- Figueroa R I, Bravo I. 2005. A study of the sexual reproduction and determination of mating type of *Gymnodinium nolleri* (Dinophyceae) in culture. Journal of Phycology, 41(1): 74-83
- Figueroa R I, Dapena C, Bravo I, et al. 2015. The hidden sexuality of *Alexandrium minutum*: an example of overlooked sex in dinoflagellates. PLoS One, 10(11): e0142667
- Figueroa R I, Garcés E, Bravo I. 2010. The use of flow cytometry for species identification and life-cycle studies in dinoflagellates. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 57(3-4): 301-307
- Figueroa R I, Vázquez J A, Massanet A, et al. 2011. Interactive effects of salinity and temperature on planozygote and cyst formation of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) in culture. Journal of Phycology, 47(1): 13-24
- Fistarl G O, Legrand C, Rengefors K, et al. 2004. Temporary cyst formation in phytoplankton: a response to allelopathic competitors? Environmental Microbiology, 6(8): 791-798

- Footitt S, Douterelo-Soler I, Clay H, et al. 2011. Dormancy cycling in *Arabidopsis* seeds is controlled by seasonally distinct hormone-signaling pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(50): 20236-20241
- Fukuyo. 2002. Harmful algal blooms and their global expansion. *Otsuchi Marine Science*, 27: 41
- Ganini D, Hollnagel H C, Colepicolo P, et al. 2013. Hydrogen peroxide and nitric oxide trigger redox-related cyst formation in cultures of the dinoflagellate *Lingulodinium polyedrum*. *Harmful Algae*, 27: 121-129
- Garcés E, Masó M, Camp J. 2002. Role of temporary cysts in the population dynamics of *Alexandrium taylori* (Dinophyceae). *Journal of Plankton Research*, 24(7): 681-686
- Garcés E, Montresor M, Lewis J, et al. 2010. Preface to: phytoplankton life cycles and their impacts on the ecology of harmful algal blooms. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 57(3-4): 159-161
- Glibert P M, Legrand C. 2006. The diverse nutrient strategies of harmful algae: focus on osmotrophy// Granéli E, Turner J T. *Ecology of Harmful Algae*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag: 163-175
- Godhe A, Rehnstam-Holm A S, Karunasagar I, et al. 2002. PCR detection of dinoflagellate cysts in field sediment samples from tropic and temperate environments. *Harmful Algae*, 1(4): 361-373
- Gómez F. 2012. A checklist and classification of living dinoflagellates (Dinoflagellata, Alveolata). *CICIMAR Océanides*, 27(1): 65-140
- Grigorszky I, Kiss K T, Béres V, et al. 2006. The effects of temperature, nitrogen, and phosphorus on the encystment of *Peridinium cinctum*, Stein (Dinophyta). *Hydrobiologia*, 563(1): 527-535
- Gu H F, Liu T T, Vale P, et al. 2013a. Morphology, phylogeny and toxin profiles of *Gymnodinium inusitatum* sp. nov., *Gymnodinium catenatum* and *Gymnodinium microreticulatum* (Dinophyceae) from the Yellow Sea, China. *Harmful Algae*, 28: 97-107
- Gu H F, Luo Z H, Krock B, et al. 2013b. Morphology, phylogeny and azaspiracid profile of *Azadinium poporum* (Dinophyceae) from the China Sea. *Harmful Algae*, 21-22: 64-75
- Gu H F, Luo Z H, Liu T T, et al. 2013c. Morphology and phylogeny of *Scrippsiella enormis* sp. nov. and *S. cf. spinifera* (Peridinales, Dinophyceae) from the China Sea. *Phycologia*, 52(2): 182-190
- Gu H F, Luo Z H, Zeng N, et al. 2013d. First record of *Pentapharsodinium* (Peridinales, Dinophyceae) in the China Sea, with description of *Pentapharsodinium dalei* var. *aciculiferum*. *Phycological Research*, 61(4): 256-267
- Gu H F, Luo Z H, Zhang X D, et al. 2013e. Morphology, ultrastructure and phylogeny of *Takayama xiamenensis* sp. nov. (Gymnodinales, Dinophyceae) from the East China Sea. *Phycologia*, 52(3): 256-265
- Guo R, 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
- Haberkorn H, Hégaret H, Marie D, et al. 2011. Flow cytometric measurements of cellular responses in a toxic dinoflagellate, *Alexandrium minutum*, upon exposure to thermal, chemical and mechanical stresses. *Harmful Algae*, 10(5): 463-471
- Hallegraeff G M, Bolch C J. 1991. Transport of toxic dinoflagellate cysts via ships' ballast water. *Marine Pollution Bulletin*, 22(1): 27-30
- Hallegraeff G M. 1993. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia*, 32(2): 79-99
- He R Y, McGillicuddy D J Jr, Keafer B A, et al. 2008. Historic 2005 toxic bloom of *Alexandrium fundyense* in the western Gulf of Maine: 2. Coupled biophysical numerical modeling. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 113: C07040
- Hedden P, Phillips A L. 2000. Gibberellin metabolism: new insights revealed by the genes. *Trends in Plant Science*, 5(12): 523-530
- 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
- Huang S, Raman A S, Ream J E, et al. 1998. Overexpression of 20-oxidase confers a gibberellin-overproduction phenotype in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 118(3): 773-781
- Ishikawa A, Taniguchi A. 1994. The role of cysts on population dynamics of *Scrippsiella* spp. (Dinophyceae) in Onagawa Bay, northeast Japan. *Marine Biology*, 119(1): 39-44
- 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
- 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
- Koornneef M, Bentsink L, Hilhorst H. 2002. Seed dormancy and germination. Current Opinion in Plant Biology, 5(1): 33-36
- Kremp A, Anderson D M. 2000. Factors regulating germination of resting cysts of the spring bloom dinoflagellate *Scrippsiella hangoei* from the northern Baltic Sea. Journal of Plankton Research, 22(7): 1311-1327
- Kremp A, Anderson D M. 2004. Lectin binding patterns of *Scrippsiella lachrymosa* (Dinophyceae) in relation to cyst formation and nutrient conditions. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 307(2): 165-181
- Kremp A, Rengefors K, Montresor M. 2009. Species specific encystment patterns in three Baltic cold-water dinoflagellates: the role of multiple cues in resting cyst formation. Limnology and Oceanography, 54(4): 1125-1138
- Kucera B, Cohn M A, Leubner-Metzger G. 2005. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. Seed Science Research, 15(4): 281-307
- Kudela R M, Gobler C J. 2012. Harmful dinoflagellate blooms caused by *Cochlodinium* sp.: global expansion and ecological strategies facilitating bloom formation. Harmful Algae, 14: 71-88
- Lefebvre V, North H, Frey A, et al. 2006. Functional analysis of Arabidopsis NCED6 and NCED9 genes indicates that ABA synthesized in the endosperm is involved in the induction of seed dormancy. The Plant Journal, 45(3): 309-319
- Leroy S A G, Lahijani H A K, Reyss J L, et al. 2013. A two-step expansion of the dinocyst *Lingulodinium machaerophorum* in the Caspian Sea: the role of changing environment. Quaternary Science Reviews, 77: 31-45
- Lin S J, Cheng S F, Song B, et al. 2015. The *Symbiodinium kawagutii* genome illuminates dinoflagellate gene expression and coral symbiosis. Science, 350(6261): 691-694
- Lin S J. 2011. Genomic understanding of dinoflagellates. Research in Microbiology, 162(6): 551-569
- Liu D Y, Shen X H, Di B P, et al. 2013. Palaeoecological analysis of phytoplankton regime shifts in response to coastal eutrophication. Marine Ecology Progress Series, 475: 1-14
- Lowe C D, Mello L V, Samatar N, et al. 2011. The transcriptome of the novel dinoflagellate *Oxyrrhis marina* (Alveolata: Dinophyceae): response to salinity examined by 454 sequencing. BMC Genomics, 12: 519
- Lundholm N, Ribeiro S, Andersen T J, et al. 2011. Buried alive-germination of up to a century-old marine protist resting stages. Phycologia, 50(6): 629-640
- Luo Z H, Gu H F, Krock B, et al. 2013. *Azadinium dalianense*, a new dinoflagellate species from the Yellow Sea, China. Phycologia, 52(6): 625-636
- Mardones J I, Bolch C, Guzmán L, et al. 2016. Role of resting cysts in Chilean *Alexandrium catenella* dinoflagellate blooms revisited. Harmful Algae, 55: 238-249
- Matsuoka K, Fukuyo Y. 2003. Taxonomy of cysts// Hallegraeff G M, Anderson D M, Cembella A D. Manual on Harmful Marine Microalgae. Manual and Guides IOC, UNESCO: 563-592
- Matsuoka K, Fukuyo Y. 2000. Technical guide for modern dinoflagellate cyst study//WESTPAC-HAB/WEATPAC/IOC. Tokyo, Japan: Japan Society for the Promotion of Science: 29
- Mayali X, Franks P J S, Azam F. 2007. Bacterial induction of temporary cyst formation by the dinoflagellate *Lingulodinium polyedrum*. Aquatic Microbial Ecology, 50(1): 51-62
- McCarty D R. 1995. Genetic control and integration of maturation and germination pathways in seed development. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 46: 71-93
- Meier K J S, Höll C, Willems H. 2004. Effect of temperature on culture growth and cyst production in the calcareous dinoflagellates *Calciodinellum albatrosianum*, *Leonella granifera* and *Pernambugia tuberosa*. Micropaleontology, 50(S1): 93-106
- Meier K J S, Young J R, Kirsch M, et al. 2007. Evolution of different life-cycle strategies in oceanic calcareous dinoflagellates. European Journal of Phycology, 42(1): 81-89
- Millar A A, Jacobsen J V, Ross J J, et al. 2006. Seed dormancy and ABA metabolism in Arabidopsis and barley: the role of ABA 8'-hydroxylase. The Plant Journal, 45(6): 942-954

- Moore S K, Bill B D, Hay L R, et al. 2015. Factors regulating excystment of *Alexandrium* in Puget Sound, WA, USA. *Harmful Algae*, 43: 103-110
- 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
- Murray S A, Suggett D J, Doblin M A, et al. 2016. Unravelling the functional genetics of dinoflagellates: a review of approaches and opportunities. *Perspectives in Phycology*, 3(1): 37-52
- Nambara E, Marion-Poll A. 2005. Absciscic acid biosynthesis and catabolism. *Annual Review of Plant Biology*, 56: 165-185
- Okamoto M, Kuwahara A, Seo M, et al. 2006. CYP707A1 and CYP707A2, which encode abscisic acid 8'-hydroxylases, are indispensable for proper control of seed dormancy and germination in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 141(1): 97-107
- Olli K, Anderson D M. 2002. High encystment success of the dinoflagellate *Scrippsiella* cf. *lachrymosa* in culture experiments. *Journal of Phycology*, 38(1): 145-156
- Olli K, Trunov K. 2010. Abundance and distribution of vernal bloom dinoflagellate cysts in the Gulf of Finland and Gulf of Riga (the Baltic Sea). *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 57(3-4): 235-242
- Olszewski N, Sun T P, Gubler F. 2002. Gibberellin signaling: biosynthesis, catabolism, and response pathways. *Plant Cell*, 14(Suppl 1): S61-S80
- Parrow M, Kremp A. 2008. Asexual resting cysts: a common dinoflagellate survival strategy?//Abstracts of the Eighth International Conference on Modern and Fossil Dinoflagellates, May 4-10, 2008, Montreal: 42-43
- Pfiester L A, Anderson D M. 1987. Dinoflagellate reproduction//Taylor F J R. *The Biology of Dinoflagellates*. Oxford: Blackwell Science: 611-648
- Portune K J. 2008. Examinations on Harmful Algal Cyst Distribution, Germination, and Reactive Oxygen Species Production within Delaware's Inland Bays, USA. Newark: USA: Ph. D Dissertation of University of Delaware
- Qi Y Z, Hong Y, Zheng L, et al. 1996. Dinoflagellate cysts from recent marine sediments of the South and East China Seas. *Asian Marine Biology*, 13: 87-103
- 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
- Radi T, Pospelova V, De Vernal A, et al. 2007. Dinoflagellate cysts as indicators of water quality and productivity in British Columbia estuarine environments. *Marine Micropaleontology*, 62(4): 269-297
- Ribeiro S, Berge T, Lundholm N, et al. 2011. Phytoplankton growth after a century of dormancy illuminates past resilience to catastrophic darkness. *Nature Communications*, 2: 311
- Rintala J M, Spilling K, Blomster J. 2007. Temporary cyst enables long-term dark survival of *Scrippsiella hangoei* (Dinophyceae). *Marine Biology*, 152(1): 57-62
- Rodriguez-Lanetty M, Phillips W S, Weis V M. 2006. Transcriptome analysis of a cnidarian-dinoflagellate mutualism reveals complex modulation of host gene expression. *BMC Genomics*, 7: 23
- Saito S, Hirai N, Matsumoto C, et al. 2004. Arabidopsis CYP707As encode (+)-abscisic acid 8'-hydroxylase, a key enzyme in the oxidative catabolism of abscisic acid. *Plant Physiology*, 134(4): 1439-1449
- Sakamoto T, Miura K, Itoh H, et al. 2004. An overview of gibberellin metabolism enzyme genes and their related mutants in rice. *Plant Physiology*, 134(4): 1642-1653
- Satta C T, Anglés S, Garcés E, et al. 2010. Dinoflagellate cysts in recent sediments from two semi-enclosed areas of the Western Mediterranean Sea subject to high human impact. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 57(3-4): 256-267
- Schwartz S H, Tan B C, Gage D A, et al. 1997. Specific oxidative cleavage of carotenoids by VP14 of maize. *Science*, 276(5320): 1872-1874
- Sgrosso S, Esposito F, Montresor M. 2001. Temperature and daylength regulate encystment in calcareous cyst-forming dinoflagellates. *Marine Ecology Progress Series*, 211: 77-87
- Shikata T, Nagasoe S, Matsubara T, et al. 2008. Encystment and excystment of *Gyrodinium instriatum* Freudenthal et Lee. *Journal of Oceanography*, 64(3): 355-365
- Smayda T J. 2007. Reflections on the ballast water dispersal--harmful algal bloom paradigm. *Harmful Algae*, 6(4): 601-622
- Steidinger K A, Garccés E. 2006. Importance of life cycles in the ecology of harmful microalgae//

- Granéli E, Turner JT. Ecology of Harmful Algae. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag: 37-49
- Steidinger K A. 2010. Research on the life cycles of harmful algae: a commentary. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 57(3-4): 162-165
- Stock C A, McGillicuddy D J Jr, Solow A R, et al. 2005. Evaluating hypotheses for the initiation and development of *Alexandrium fundyense* blooms in the western Gulf of Maine using a coupled physical-biological model. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 52(19-21): 2715-2744
- Stoecker D, Tillmann U, Granéli E. 2006. Phagotrophy in harmful algae//Granéli E, Turner J T. Ecology of Harmful Algae. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag: 177-187
- Tang Y Z, Gobler C J. 2009a. Characterization of the toxicity of *Cochlodinium polykrikoides* isolates from Northeast US estuaries to finfish and shellfish. Harmful Algae, 8(3): 454-462
- Tang Y Z, Gobler C J. 2009b. *Cochlodinium polykrikoides* blooms and clonal isolates from the northwest Atlantic coast cause rapid mortality in larvae of multiple bivalve species. Marine Biology, 156(12): 2601-2611
- Tang Y Z, Gobler C J. 2010. Allelopathic effects of *Cochlodinium polykrikoides* isolates and blooms from the estuaries of Long Island, New York, on co-occurring phytoplankton. Marine Ecology Progress Series, 406: 19-31
- Tang Y Z, Gobler C J. 2012. The toxic dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* (Dinophyceae) produces resting cysts. Harmful Algae, 20: 71-80
- Tang Y Z, Gobler C J. 2015. Sexual resting cyst production by the dinoflagellate *Akashiwo sanguinea*: a potential mechanism contributing to the ubiquitous distribution of a harmful alga. Journal of Phycology, 51(2): 298-309
- Tang Y Z, Koch F, Gobler C J. 2010. Most harmful algal bloom species are vitamin B<sub>1</sub> and B<sub>12</sub> auxotrophs. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 107(48): 20756-20761
- Thompson A J, Jackson A C, Symonds R C, et al. 2000. Ectopic expression of a tomato 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase gene causes over-production of abscisic acid. The Plant Journal, 23(3): 363-374
- Toth G B, Norén F, Selander E, et al. 2004. Marine dinoflagellates show induced life-history shifts to escape parasite infection in response to water-borne signals. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 271(1540): 733-738
- Uchida T, Honjo T, Matsuyama Y. 2001. The effects of physico-chemical and biological factors on *Gymnodinium mikimotoi* biomass in Gokasho Bay, Mie Prefecture, Japan. Bulletin of the Plankton Society of Japan, 48(2): 104-110
- 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
- Wall D, Dale B. 1968. Modern dinoflagellate cysts and evolution of the Peridiniales. Micropaleontology, 14(3): 265-304
- Wall D, Guillard R R L, Dale B. 1967. Marine dinoflagellate cultures from resting spores. Phycologia, 6: 83-86
- Wang D Z, Gao Y, Lin L, et al. 2013a. Comparative proteomic analysis reveals proteins putatively involved in toxin biosynthesis in the marine dinoflagellate *Alexandrium catenella*. Marine Drugs, 11(1): 213-232
- Wang D Z, Li C, Zhang Y, et al. 2012. Quantitative proteomic analysis of differentially expressed proteins in the toxicity-lost mutant of *Alexandrium catenella* (Dinophyceae) in the exponential phase. Journal of Proteomics, 75(18): 5564-5577
- Wang D Z, Zhang Y J, Zhang S F, et al. 2013b. Quantitative proteomic analysis of cell cycle of the dinoflagellate *Prorocentrum donghaiense* (Dinophyceae). PLoS One, 8(5): e63659.
- Xiang T T, Nelson W, Rodriguez J, et al. 2015. *Symbiodinium* transcriptome and global responses of cells to immediate changes in light intensity when grown under autotrophic or mixotrophic conditions. The Plant Journal, 82(1): 67-80
- Yamaguchi S. 2008. Gibberellin metabolism and its regulation. Annual Review of Plant Biology, 59: 225-251
- Yang I, John U, Beszteri S, et al. 2010. Comparative gene expression in toxic versus non-toxic strains of the marine dinoflagellate *Alexandrium minutum*. BMC Genomics, 11: 248
- Zhang S, Sui Z H, Chang L P, et al. 2014. Transcriptome *de novo* assembly sequencing and analysis of the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* using the Illumina platform. Gene, 537: 285-293
- Zhou M J. 2010. Environmental settings and harmful

algal blooms in the sea area adjacent to the Changjiang River Estuary//Ishimatsu A, Lie H J. Coastal Environmental and Ecosystem Issues of the East China Sea. Tokyo, Japan: TERRAPUB and Nagasaki University: 133-149

Zonneveld K A, Susek E. 2007. Effects of temperature, light and salinity on cyst production and morphology of *Tuberculodinium vancampoe* (the resting cyst of *Pyrophacus steinii*). Review of Palaeobotany and Palynology, 145(1-2): 77-88

## Characteristical Life History (Resting Cyst) Provides A Mechanism for Recurrence and Geographic Expansion of Harmful Algal Blooms of Dinoflagellates: A Review

TANG Ying-Zhong<sup>1,2\*</sup>, HU Zhang-Xi<sup>1,2</sup>, DENG Yun-Yan<sup>1,2</sup>

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071, China)

\*Corresponding author, E-mail: yingzhong.tang@qdio.ac.cn

**Abstract** The coastal waters of China Seas have observed many harmful algal blooms (HABs) caused by dinoflagellates such as *Karenia mikimotoi* and *Prorocentrum donghaiense* in the last decades and the associated catastrophic losses in shellfish aquaculture, fisheries and coastal ecosystems. In the view of addressing these problems, we reviewed the advancements in our knowledge about the characteristical life history and in particular, resting cysts, of dinoflagellates, because cysts have been shown to be associated with genetic recombination; resistance to unfavorable environments; protection from viruses, grazers, or parasite attacks; termination of HABs; seeding recurrent HABs; and geographic expansion of populations via ships' ballast water. We reviewed and discussed ①the complexity of life cycles of dinoflagellates and controversies in the terms of cysts, ②the importance of cyst mapping in forecasting blooms and the associated complexity in the coupling between cyst abundance/distribution and blooms, ③the complexity of factors affecting encystment and excystment, and ④the recent progresses in genomics and transcriptomics about dinoflagellates in general and cyst-relevant molecular mechanisms in particular, and the possible vital roles of phytohormone in cyst-relevant processes. After a brief summary for the landmarks in cyst-relevant studies in the international HAB community and China, we end the review by highlighting four research themes about cyst-relevant issues in China, namely, ①comprehensive investigations on an inventory of dinoflagellate cysts in the coastal sediments of China Seas and on the life histories of those important HAB species in China, ②more intensive investigations on the species of cysts carried in those ships arriving ports of China ③more field investigations on the processes in encystment, excystment, and coupling between life history events and bloom dynamics, and ④investigations on the molecular processes relevant to encystment, dormancy, and excystment via a combined approach of omics and physiology.

**Key words** harmful algal blooms; dinoflagellates; life history; resting cysts; encystment; excystment; ships' ballast water; sediment