秦皇岛海域“褐潮”海水对卤虫、轮虫存活和摄食的影响研究

公　晗[1,2], 孔凡洲[1], 王云峰[1], 颜　天[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, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 为评价秦皇岛褐潮现场海水的毒性, 作者利用 HPLC 技术及 CHEMTAX, 分析了 2013 年 7 月 2 日采自秦皇岛褐潮高峰期微型及微微型浮游植物的色素组成及群落结构; 测定了卤虫(*Artemia salina*)、轮虫(*Brachionus plicatilis*)存活率和摄食量。研究表明, 褐潮海水微型及微微型浮游植物中, 海金藻(Pelagophyceae)占主要优势, 其生物量占总生物量的 72.6%。褐潮海水抑制卤虫存活, 卤虫 48 h 存活率降至 77%; 对轮虫 24 h 存活没有显著效应。此外, 褐潮海水抑制卤虫、轮虫的摄食, 卤虫、轮虫 8 h 内摄食量分别由(5.5±0.4)ng/个降至(2.4±0.4)ng/个、由(1.5±0.2)ng/个下降至(0.9±0.1)ng/个。该结果与美国的 3 株褐潮藻的毒性进行了比较。CCMP 1507 对卤虫存活有显著抑制作用, 其他两株没有显著效应; 3 株褐潮藻对轮虫 24 h 存活都没有显著影响。暴露于 3 株褐潮藻中, 卤虫的摄食量均显著较低; 其中 CCMP 1507 在混合饵料中还抑制卤虫、轮虫对其他藻的摄食。对 CCMP 1507 各组分分析发现, 该藻的毒性主要来源于藻细胞。结合现场试验与室内试验结果分析表明, 秦皇岛褐潮对卤虫、轮虫有一定的毒性, 其毒性与 CCMP 1507 的毒性相当。

关键词: 褐潮; 卤虫(*Artemia salina*); 轮虫(*Brachionus plicatilis*); 存活; 摄食

中图分类号: X55　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1000-3096(2015)04-0030-07

doi: 10.11759/hykx20140312002

褐潮通常是指由于海金藻纲(Pelagophyceae)微藻抑食金球藻(*Aureococcus anophagefferens*)或 *Aureoumbra lagunensis* 暴发性增殖而形成的藻华现象[1], 藻华发生期间, 水体呈现黄褐色。抑食金球藻呈金黄色, 球形, 直径约为 2 μm[2]。*A. lagunensis* 与抑食金球藻的形态相似, 直径为 4~5 μm[3]。

自 1985 年起, 美国东海岸抑食金球藻频频暴发, 暴发密度高于 1.0×10^6 个/mL[4], 给贝类养殖业造成了巨大损失; 1990 年~1996 年, 德克萨斯州 *A. lagunensis* 暴发时, 细胞密度最高达到 1.0×10^7 个/mL[5], 给海洋生态系统造成了巨大危害。自 2009 年起, 中国渤海秦皇岛沿岸海域连续 5 年暴发了褐潮, 导致当地养殖贝类大量滞长甚至死亡; 2010 年, 河北省直接经济损失达 2 亿元[6]。褐潮的一个优势种为抑食金球藻, 其细胞密度最高达 1.0×10^6 个/mL[7]。

褐潮藻的不同株系毒性有差异[8], 中国褐潮毒性的研究还未见被报道, 相关研究亟待开展。浮游动物是微藻的初级消费者, 与藻华的发生及生态效应有密切关系。国外已有研究表明, 褐潮会影响中、小型浮游动物的生长、发育、摄食及繁殖等[9]。作者选取了海洋生态毒理学研究中常用的模式生物——卤虫(*Artemia salina*)、褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*, 以下称轮虫)为对象, 研究了秦皇岛褐潮现场海水对其存活、摄食的影响; 同时以 3 株室内培养的褐潮藻(抑食金球藻 CCMP 1984、CCMP 1850, *A. lagunensis* CCMP 1507)为参照, 首次初步评价了秦皇岛褐潮的毒性, 为今后有关中国褐潮毒理的研究提供基础。

1　材料与方法

褐潮海水于 2013 年 7 月 2 日(褐潮暴发高峰期)采自秦皇岛, 采集站位坐标为 119°25’54”E, 39°46’37”N。从采集至用于实验, 时间约为 1 h。

3 株褐潮藻购于美国海藻及微生物中心(NCMA, 原 CCMP), 球等鞭金藻(*Isochrysis galbana*, 以下简

收稿日期: 2014-03-12; 修回日期: 2014-05-05

基金项目: 国家重点基础研究规划 973 项目(2010CB428705); 国家自然科学基金委创新群体项目(41121064); 国家海洋公益性行业科研专项项目(201305003); 国家自然科学基金资助项目(41276117、41206098)

作者简介: 公晗(1990-), 女, 山东平邑人, 硕士在读, 主要从事褐潮生态毒理学研究, 电话: 0532- 82898649, E- mail: gonghan11@mails.ucas.ac.cn; 颜天, 通信作者, E-mail: tianyan@qdio.ac.cn

写为 ISO)、小球藻(*Chlorella* sp., 以下简写为 CHL)由中国科学院海洋研究所藻种中心提供。藻培养温度为 18℃, 光暗比为 14 h: 10 h。用于藻类培养的海水引自青岛胶州湾外太平角无污染海水, 使用前经沉淀沙滤、0.45 μm 混合纤维滤膜过滤, 高温煮沸消毒。选择生长良好的指数期藻液在显微镜下用血球计数板计数后用于实验。

实验用卤虫为卤虫卵经 23 ℃海水孵化得到的无节幼体 (instar II-Ⅲ)。轮虫由中国科学院海洋研究所培养中心提供, 为实验室常年培养种。

1.1 褐潮海水中浮游植物色素及类群分析

褐潮海水经 20 μm 筛绢过滤后, 在血球计数板下进行镜检。过滤 50 mL 于 GF/F 玻璃纤维滤膜(平均孔径 0.68 μm), 取 6 个平行样用于色素分析。色素分析用内标(Internal Standard, IS)为 8′-阿朴-β, ψ-胡萝卜醛(Apocarotenal, Apo)。所用材料与试剂、样品的预处理、高效液相色谱(HPLC)分析及浮游植物类群的 CHEMTAX 分析方法参照孔凡洲等[10]。根据 Kong 等[11]中给出的 But 含量与褐潮藻的细胞密度关系, 计算得到现场海水中褐潮藻的细胞密度。

1.2 浮游动物存活实验

1.2.1 卤虫存活实验

实验选用 24 孔培养板, 每孔加入 1 mL 测试藻液。在解剖镜下用滴管将卤虫转移到培养板各孔中, 每孔分别放 10 只卤虫。

秦皇岛褐潮海水及 3 株美国褐潮藻分别用于实验中, 现场海水中褐潮藻、CCMP1984、CCMP 1850、CCMP 1507 密度分别为 8.0×10^5(HPLC 计算结果)、1.5×10^7、1.5×10^7、1.0×10^6 个/mL。以球等鞭金藻(1.0×10^5 个/mL)为对照组, 另设灭菌海水为饥饿组, 每组 3 个平行。实验共进行 48 h, 24 h 时更换新鲜实验液, 分别于 24、48 h 记录卤虫存活数。

CCMP 1507(1.0×10^6 个/mL)经 0.45 μm 混合纤维滤膜过滤浓缩后(过滤负压不超过 5 kPa), 将藻细胞重新悬浮于与原藻液等体积的新鲜海水中; 取部分藻细胞重悬液, 用超声波细胞粉碎机破碎; 藻细胞重悬液、藻细胞破碎液和去藻过滤液分别用于实验中。实验共进行 60 h, 24 h 时更换新鲜实验液, 分别于 12、24、36、48、60 h 记录卤虫存活数。

1.2.2 轮虫存活实验

实验容器、实验体积、实验对象数目及实验用藻密度设置同 1.2.1。实验前, 挑选挂卵轮虫置于灭菌海水中培养 24 h, 吸取刚出生 4 h 以内的幼体用于实验。实验以小球藻(1.0×10^6 个/mL)为对照组, 实验进行 24 h, 实验结束后记录轮虫存活数。

1.3 浮游动物摄食实验

1.3.1 卤虫摄食实验

实验在黑暗条件下进行, 实验温度为 20 ℃, 实验时间为 8 h, 实验容器为 500 mL 烧杯, 实验体积为 300 mL, 每个烧杯分别加入卤虫 600~700 只。实验结束时, 以筛绢滤出卤虫, 用灭菌海水反复冲洗后, 取 100 只滤于 GF/F 玻璃纤维滤膜上。将滤膜放入棕色瓶中, 加入 5 mL 90%的丙酮溶液, 冰浴超声破碎, 放入 4 ℃冰箱中避光萃取 24 h, 采用特纳(Turner Designs) 荧光计测出荧光值求出卤虫体内色素含量。按照王荣[12]所做改进, 以叶绿素 a 与脱镁叶绿酸 a 的绝对含量(ng/个)来定量卤虫体内色素。将摄食量定义为:

$$F(\text{ng/个}) = c(\text{Chl}a) + c(\text{Pha.a})$$

式中, F 为实验时间内每只卤虫的摄食量; c(Chl$a$)和 c(Pha. A) 分别为实验时间内每只卤虫体内叶绿素 a 和脱镁叶绿酸 a 含量。

实验分为两个部分: (1)单独投喂褐潮海水或美国褐潮藻; (2)投喂褐潮海水或美国褐潮藻与球等鞭金藻混合饵料。现场海水中褐潮藻、CCMP 1984、CCMP 1850、CCMP 1507 密度分别为 8.0×10^5、5.0×10^5、5.0×10^5、5.0×10^4 个/mL。所有实验都设置等生物量的球等鞭金藻(5.0×10^4 个/mL)为对照组、灭菌海水为饥饿组, 每组 3 个平行。

1.3.2 轮虫摄食实验

实验材料与方法类似于 1.3.1, 不同之处为: 实验前, 将轮虫置于灭菌海水中饥饿处理 24 h; 每个烧杯分别加入轮虫 1 000~1 200 只; 实验采用小球藻(3.0×10^5 个/mL)为对照组。

1.4 数据分析与统计

使用 SPSS 16.0 进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), 采用 LSD 和 Duncans 比较各处理组的显著性差异。

2 结果与分析

2.1 褐潮现场海水分析结果

2.1.1 镜检结果

过滤后的样品在显微镜下观察, 样品中主要为 2~4 μm 金黄色球形藻, 在血球计数板下计数得到细

胞密度约为 1.0× 10^6 个/mL。

2.1.2 色素组成

如图 1 所示，在微型和微微型浮游植物样品中，主要色素组分是 19’-丁酰氧基岩藻黄素(19’-butanoyloxyfucoxanthin, But)、岩藻黄素(Fucoxanthin, Fuco)、硅甲藻黄素(Diadinoxanthin, Diad)和叶绿素 *a*(Chlorophyll*a*, Chl*a*)，此外还有微量的多甲藻素(Peridinin, Peri)、19’-己酰氧基岩藻黄素(19’-hexanoyloxyFucoxanthin, Hex)、别黄素(Alloxanthin, Allo)、玉米黄素(Zeaxanthin, Zea)、叶黄素(Lutein, Lut)。结合镜检结果，表明现场海水中有海金藻、硅藻、定鞭藻、隐藻、绿藻、蓝藻、甲藻，且主要为海金藻。

2.1.3 不同浮游植物类群对 Chl*a* 含量的贡献

应用 CHEMTAX 软件，构建海金藻、硅藻、定鞭藻、隐藻、绿藻、蓝藻、甲藻 7 类微藻的色素比率初始矩阵如表 1 初始色素，对该矩阵进行优化后得到最终矩阵如表 1 最终色素所示。应用这一矩阵，计算了不同浮游植物类群的 Chl*a* 含量，得到各类群 Chl*a* 含量占总 Chl*a* 含量比例，做图 2。可以看出，浮游植物样品中主要为海金藻，比例高达 72.6%。

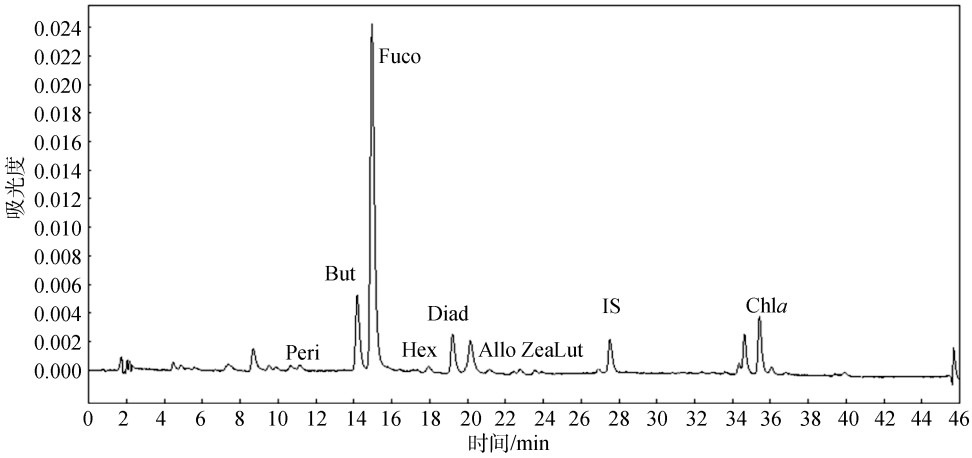

图 1 微型及微微型浮游植物样品的色素分析色谱(检测波长 440 nm)

Fig. 1 HPLC chromatograms of nano-sized and pico-sized phytoplankton samples (Detection wave length at 440 nm)

表 1 CHEMTAX 分析中不同微藻类群的初始和最终色素比率矩阵

Tab. 1 Input and output ratios of marker pigments to Chl*a* for the selected phytoplankton groups

类群	初始色素									
	peri	But	fuco	neox	hex	allo	zea	lut	chlb	chla
海金藻	0	0.33	1.08	0	0	0	0	0	0	1
硅藻	0	0	0.755	0	0	0	0	0	0	1
隐藻	0	0	0	0	0	0.229	0	0	0	1
绿藻	0	0	0	0.063	0	0	0.009	0.203	0.263	1
蓝藻	0	0	0	0	0	0	0.348	0	0	1
定鞭藻	0	0	0.465	0	1.281	0	0	0	0	1
甲藻	1.063	0	0	0	0	0	0	0	0	1
类群	最终色素									
	peri	but	fuco	neox	hex	allo	zeax	lute	chlb	chla
海金藻	0	0.392	1.856	0	0	0	0	0	0	1
硅藻	0	0	1.119	0	0	0	0	0	0	1
隐藻	0	0	0	0	0	0.234	0	0	0	1
绿藻	0	0	0	0.056	0	0	0.009	0.204	0.269	1
蓝藻	0	0	0	0	0	0	0.652	0	0	1
定鞭藻	0	0	0.409	0	1.372	0	0	0	0	1
甲藻	1.605	0	0	0	0	0	0	0	0	1

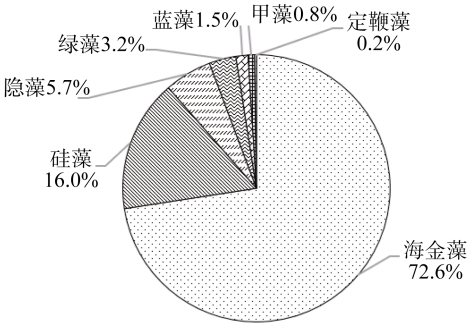

图 2　基于 CHEMTAX 分析的各微藻类群比例

Fig. 2　Ratios of different phytoplankton groups based on the results of CHEMTAX

2.2　褐潮对浮游动物存活的影响

2.2.1　褐潮对卤虫存活的影响

卤虫无节幼体在各处理组中 24、48 h 的存活率如图 3 所示。在褐潮海水中，卤虫 48 h 存活率下降至 77%，与对照组有显著差异，与饥饿组无显著差异。在 CCMP 1507 中，卤虫 24 h 存活率仅为 60%, 48 h 存活率仅为 30%，与对照组有显著差异。在 CCMP 1984、CCMP 1850 实验组中，卤虫 48 h 存活率与对照组无显著差异，存活率在 90%以上。

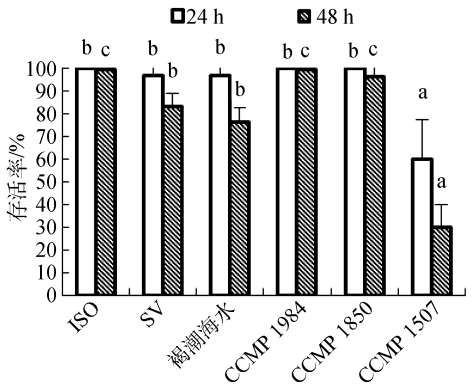

图 3　投喂单一饵料时卤虫的存活率

Fig. 3　Survival of *Artemia salina* exposed to a unialgal diet

ISO 为球等鞭金藻, SV 为饥饿组(图 4、图 6、图 7 同)，不同英文字母表示差异性显著(P<0.05)(图 6~图 9 同)

ISO indicates *Isochrysis galbana*, SV indicates starvation(the same as fig.4, fig.6, fig.7), different letters indicate significant difference at P<0.05 (the same as fig.6~fig.9)

依据上述实验结果，探究 CCMP 1507 不同组分对卤虫存活的影响。实验表明(图 4)，卤虫在藻细胞重悬液、藻细胞破碎液中的存活率急剧下降, 60 h 内全部死亡，存活率显著低于对照组及饥饿组；卤虫在藻滤液中的存活率下降趋势与饥饿组无显著差异。即藻细胞重悬液、藻细胞破碎液显著降低卤虫

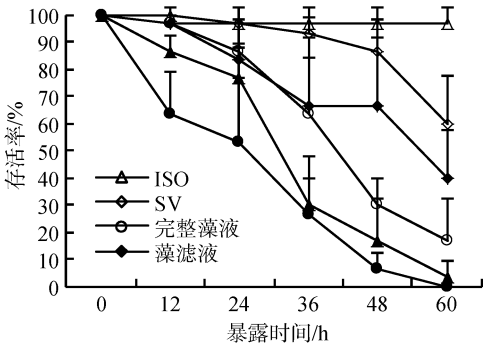

图 4　卤虫在 CCMP 1507 不同组分中的存活率

Fig. 4　Survival of *Artemia salina* exposed to different components of CCMP 1507

存活率，藻滤液对卤虫的存活无显著影响。表明该藻的毒性主要来自藻细胞。

2.2.2　褐潮对轮虫存活的影响

各实验组轮虫 24 h 存活率均为 100%(图 5)，褐潮海水及美国 3 株褐潮藻对轮虫都没有急性致死效应。

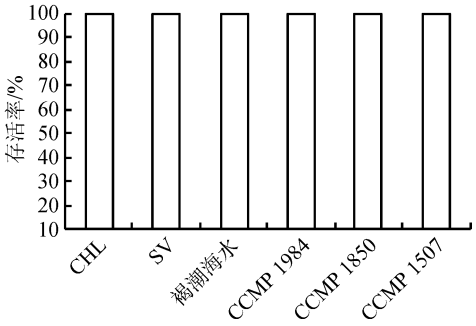

图 5　投喂单一饵料时轮虫的存活率

Fig. 5　Survival of *Brachionus plicatilis* exposed to a unialgal diet

SV 为饥饿组, CHL 为小球藻(图 8、图 9 同)

SV indicates Starvation, CHL indicates *Chlorella* sp.(the same as fig.8, fig.9)

2.3　褐潮对浮游动物摄食的影响

2.3.1　褐潮对卤虫摄食的影响

图 6 表示分别单独投喂褐潮海水、CCMP 1984、CCMP 1850、CCMP 1507 时，卤虫 8 h 的摄食量。可见卤虫在褐潮海水中的摄食量与饥饿组无显著差异，表明卤虫不摄食褐潮海水中微藻。卤虫在 3 株美国褐潮藻中的摄食量显著低于对照组。

图 7 表示分别投喂褐潮海水、CCMP 1984、CCMP 1850、CCMP 1507 与金藻混合饵料时，卤虫 8 h 的摄食量。结果表明，在褐潮海水与金藻混合饵料中，卤虫可以摄食，但摄食量显著低于对照组, 8 h 内摄食量由(5.5±0.4)ng/个降至(2.4±0.4)ng/个。表

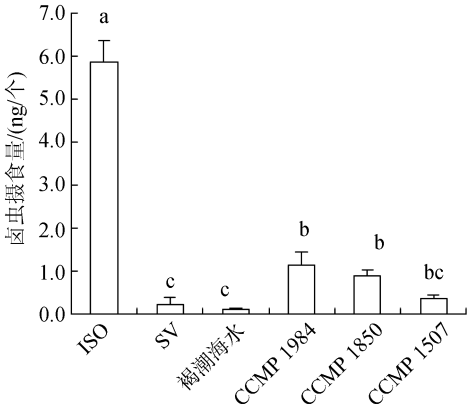

图 6　投喂单一饵料时卤虫的摄食量

Fig. 6　Ingestion of *Artemia salina* on a unialgal diet

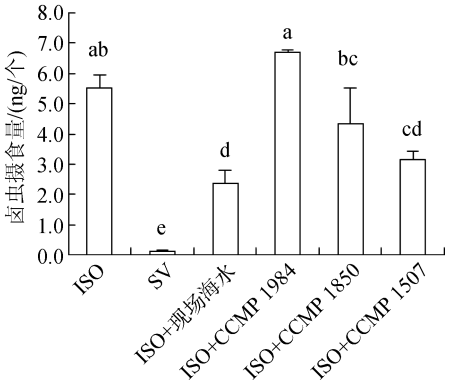

图 7　投喂混合饵料时卤虫的摄食量

Fig. 7　Ingestion of *Artemia salina* on a mix diet

明褐潮海水对卤虫的摄食有抑制作用。CCMP 1507 具有相同的效应。在 CCMP 1984 与金藻的混合饵料中，卤虫的摄食量高于对照组；在 CCMP 1850 与金藻的混合饵料中，卤虫的摄食量与对照组无显著差异，表明这两株藻对卤虫的摄食没有抑制作用。

2.3.2　褐潮对轮虫摄食的影响

图 8 表示分别单独投喂褐潮海水、CCMP 1984、CCMP 1850、CCMP 1507 时，轮虫 8 h 的摄食量。可见轮虫在褐潮海水中摄食量显著低于对照组，与饥饿组无显著差异，表明轮虫不摄食现场海水中微藻。轮虫对 CCMP 1507 的摄食量显著低于对照组。轮虫对 CCMP 1984、CCMP 1850 的摄食量与对照组无显著差异。

图 9 表示分别投喂褐潮海水、CCMP 1507 与小球藻混合饵料时，轮虫 8 h 的摄食量。结果表明，轮虫在混合饵料中，8 h 内摄食量由(1.5±0.2)ng/个分别下降至(0.9±0.1)ng/个、(0.5±0.3)ng/个。表明褐潮海水及 CCMP 1507 对卤虫的摄食有抑制作用。

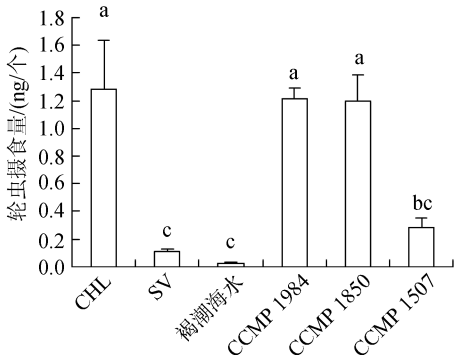

图 8　投喂单一饵料时轮虫的摄食量

Fig. 8　Ingestion of *Brachionus plicatilis* on a unialgal diet

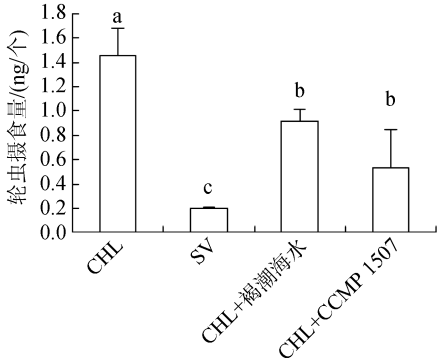

图 9　投喂混合饵料时轮虫的摄食量

Fig. 9　Ingestion of *Brachionus plicatilis* on a mix diet

3　讨论

3.1　秦皇岛褐潮对浮游动物的潜在危害

本研究首次初步评价了秦皇岛褐潮对两种浮游动物——卤虫及轮虫存活、摄食的毒性。结果表明，秦皇岛褐潮会影响卤虫的存活，抑制卤虫、轮虫的摄食。

暴露于褐潮海水中，卤虫 24 h 存活率未受到影响，而 48 h 存活率与饥饿组无显著差异，表明卤虫 48 h 存活率的下降可能是饥饿导致的，这一点也得到了卤虫摄食实验的证实。结合现场实验与室内实验结果分析表明，与以往赤潮藻毒性特点不同，褐潮藻的急性致死效应不明显，其危害主要表现为对海洋生物摄食的影响。

秦皇岛褐潮藻不仅影响两种浮游动物摄食，而且抑制浮游动物对其他饵料藻的摄食。长期暴露于褐潮发生海域，浮游动物的生长很可能受到抑制，进而导致浮游动物生物量的降低，从而更有利于微藻的生长使得藻华得以长时间持续。由于浮游动物对藻细胞大小具有摄食选择性，所以褐潮对与卤虫、轮虫大小相近的其他浮游动物或者贝类的阶段性浮

游幼虫也可能会产生一定的危害效应，进而对整个浮游动物群落结构产生影响，最终通过食物链影响整个海洋生态系统。因此秦皇岛褐潮对海洋生态系统的影响值得密切关注。

就浮游动物的毒性而言，秦皇岛褐潮的毒性效应与 CCMP 1507 毒性效应相似，CCMP 1984、CCMP 1850 的毒性相对较弱。实验所用 CCMP 1507 密度远低于现场密度，对卤虫的存活、摄食产生了显著抑制效应。实验所用 CCMP 1984、CCMP 1850 密度远高于现场密度，对卤虫没有产生致死效应，并且在本研究中没有发现这两株藻对卤虫、轮虫摄食的抑制效应。

在本研究中，卤虫、轮虫对 CCMP 1984、CCMP 1850 的摄食表现出了不同的效应：前者对两株藻的摄食量较低，而后者可以正常摄食。Smith 等[13]曾报道汤氏纺锤水蚤(*Acatia tonsa*)无节幼虫不摄食 CCMP 1850。这些不同效应可能与浮游动物的摄食选择性有关。此外，Bricelj[9]曾报道 CCMP 1784 (CCMP 1984 的无菌株)降低猛水蚤(*Coullana canadensis*)无节幼虫及纺锤水蚤桡足幼虫的存活率，但是本研究中作者并未观察到 CCMP 1984 对卤虫、轮虫的致死效应，表明不同的浮游动物对褐潮藻的敏感性可能不同。

3.2 褐潮藻的毒性来源

本研究结果表明，CCMP 1507 的毒性主要来源于藻细胞。但是这种毒性物质具体是何种物质，目前相关的研究还很少。

有学者[14-15]认为，*A. lagunensis* 可能产生一种抑制浮游动物摄食的物质[3]。例如，抑食金球藻和 *A. lagunensis* 都含有高浓度的二甲颈基丙酸内盐(DMSP)。但是目前有关 DMSP 对浮游动物摄食的抑制作用并不清楚，例如 *Chrysochromulina polylepis* 与 *Phaeocystis pouchetii* 都产生大量的 DMSP，前者抑制挺挺虫(Tintinnid)的生长及摄食，后者却可以被多种浮游动物摄食[16-17]。

在本实验中，作者只观察到在 CCMP 1984、CCMP 1850 中卤虫的摄食量低，但并未发现这两株藻抑制卤虫摄食其他藻，因此无法推断二者是否产生藻毒素。尽管有学者[18-19]认为，抑食金球藻对捕食者的抑制作用主要是细胞产生毒素引起的，但是这一观点主要是通过研究抑食金球藻对贝的危害效应得出的推论。例如，目前有很多学者认同抑食金球藻产生的抑制物质可能是存在于胞外多糖聚合物(EPS)层中类似多巴胺(DA)的一种物质。但是，目前并未检测到该藻产生的毒素物质[4, 20]，因此有关抑食金球藻产毒的结论依旧存在争议。鉴于中国还未分离到褐潮藻的纯种藻株，有关中国褐潮藻的分离、毒害效应、影响机制的研究还有待进一步开展。

参考文献:

[1] Sieburth J M, Johnson P W, Hargraves P E, et al. Ultrastructure and ecology of *Aureococcus anophagefferens* gen. et sp. nov. (Chrysophyceae) the dominant picoplankter during a bloom in Narragansett Bay, Rhode Island, summer 1985[J]. J Phycol, 1988, 24: 416-425.

[2] Hudson R, DeYoe D A S, Robert R. Description and characterzation of the algal species *Aureoumbra Lagunensis* Gen. en. et Sp. Nov. and referral of *Aureoumbra* and *Aureococcus* to the Pelagophyceae[J]. Phycol, 1997, 33: 1042-1048.

[3] Edward J, Buskey, C J H. Effects of the Texas (USA) 'brown tide' alga on planktonic grazers[J]. Marine Ecology Progress Series, 1995, 126: 285-292.

[4] Greenfield D I, Lonsdale D J, Cerrato R M, et al. Effects of background concentrations of *Aureococcus anophagefferens* (brown tide) on growth and feeding in the bivalve *Mercenaria mercenaria*[J]. Mar Ecol Prog Ser, 2004, 274: 171-181.

[5] Landon A W, Paul A M, Richard D K, et al. Sublethal effects of Texas brown tide on *Streblospio lychaeta* larvae[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2000, 248: 121-129.

[6] 国家海洋局，2011 年中国海洋灾害公报[R].北京：国家海洋局, 2012.

[7] Zhang Q C, Qiu L M, Yu R C, et al. Emergence of brown tides caused by *Aureococcus anophagefferens* Hargraves et Sieburth in China[J]. Harmful Algae, 2012, 19: 117-124.

[8] Bricelj V M, MacQuarrie S P, Schaffner R A. Differential effects of *Aureococcus anophagefferens* isolates (“brown tide”) in unialgal and mixed suspensions on bivalve feeding[J]. Mar Biol, 2001, 139: 605-615.

[9] Bricelj V M, Lonsdale D J. Causes and ecological consequences of brown tides[J]. Limnology and Oceanography, 1997, 42(5): 1023-1038.

[10] 孔凡洲，于仁成，张清春，等. 对桑沟湾海域一次藻华事件原因种的初步分析[J].海洋环境科学，2012, 31(6): 824-829.

[11] Kong F Z, Yu R C, Zhang Q C, et al. Pigment characterization for the 2011 bloom in Qinhuangdao

implicated "brown tide" events in China[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2012, 30(3): 361-370.

[12] 王荣. 荧光法测定浮游植物色素计算公式的修正[J]. 海洋科学, 1986, 10(8): 1-5.

[13] Smith J K, Lonsdale D J, Gobler C J, et al. Feeding behavior and development of *Acartia tonsa* nauplii on the brown tide alga *Aureococcus anophagefferens*[J]. Journal of Plankton Research, 2008, 30(8): 937-950.

[14] Keller M D, Bellows W K, Guillard R R L. Dimethylsulfide production and marine phytoplankton: An additional impact of unusual blooms[J]. Novel Phytoplankton Blooms, 1989, 35: 101-115.

[15] Stockwell D A, Buskey E, Whitledge T. Toxic phytoplankton blooms in the sea[C]// Proceedings 5th International Conference on Toxic Marine Phytoplankton. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1993: 693-698.

[16] Admiraal W, Venekamp L. Significance of tintinnid grazing during blooms of *Phaeocystis pouchetii* (Haptophyceae) in Dutch coastal waters[J]. Netherlands Journal of Sea Research, 1986, 20(1): 61-66.

[17] Carlsson P, Graneli E, Olsson P. Toxic marine phytoplankton[C]//Proceedings of the Fourth International Conference on Toxic Marine Phytoplankton. New York: Elsevier, 1990, 116-122.

[18] Bricelj V M, MacQuarrie S P, Smolowitz R. Concentration-dependent effects of toxic and non-toxic isolates of the brown tide alga *Aureococcus anophagefferens* on growth of juvenile bivalves[J]. Mar Ecol Prog Ser, 2004, 282: 101-114.

[19] Gainey L F, Shumway S E. The physiological effect of *Aureococcus anophagefferens* (brown tide) on the lateral cilia [J]. Biol Bull, 1991, 181: 298-306.

[20] Harke M J, Gobler C J, Shumway S E. Suspension feeding by the Atlantic slipper limpet (*Crepidula fornicata*) and the northern quahog (*Mercenaria mercenaria*) in the presence of cultured and wild populations of the harmful brown tide alga, *Aureococcus anophagefferens*[J]. Harmful Algae, 2011, 10(5): 503-511.

Effect of "Brown Tide" on survival and ingestion of *Artemia salina* and *Brachionus plicatilis* in Qinhuangdao

GONG Han[1, 2], KONG Fan-zhou[1], WANG Yun-feng[1], YAN Tian[1], ZHOU Ming-jiang[1]

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Received: Mar., 12, 2014

Key words: Brown tide; *Artemia salina*; *Brachionus plicatilis*; survival; ingestion

Abstract: To study the toxicity of the "Brown tide" in Qinhuangdao, the pigment profile and phytoplankton groups of the nano-sized and pico-sized phytoplankton samples collected from the "Brown tide" blooming sea area in Qinhuangdao on July 2rd, 2013 were analyzed using HPLC and CHEMTAX, and the survival and ingestion of *Artemia salina* and *Brachionus plicatilis* were tested. It was found that pelagophytes played a predominant role, constituting 72.6% of the total phytoplankton biomass. The survival of *A. salina* decreased to 77% during 48 h exposure, while that of rotifer was not affected during 24 h exposure. Additionally, the ingestion of *A. salina* and rotifer in 8 hours was inhibited, reduced from (5.5±0.4)ng/ind to (2.4±0.4) ng/ind, and from (1.5±0.2) ng/ind to (0.9±0.1) ng/ind, respectively. Study on the toxicity of three "Brown tide" algae from America showed that CCMP 1507 affected the survival of *A. salina* during 48 h exposure, while no mortality was observed for rotifer during 24 h exposure. The ingestion of *A. salina* was low when fed on "Brown Tide" algae. CCMP 1507 inhibited the ingestion of *A. salina* as well as rotifer, while CCMP 1984 and CCMP 1850 showed no adverse effect on the ingestion of rotifer. The toxicity comparison of different fractions from CCMP 1507 showed that the toxicity was mainly contributed by the algae cells. Results of field experiments combined with laboratory experiments showed that the "Brown tide" in Qinhuangdao had adverse effects on *A. salina* and *B. plicatilis*, and its toxicity was generally similar to that of CCMP 1507.

(本文编辑: 谭雪静)