

米氏凯伦藻的研究进展

The research trend of *Karenia mikimotoi*

刘桂英^{1,2}, 葛 坤³, 宋 伦^{1,2}, 张瑜洋⁴, 王年斌^{1,2}

(1. 辽宁省海洋水产科学研究院, 辽宁 大连 116023; 2. 辽宁省海洋环境监测总站, 辽宁 大连 116023; 3. 大连海洋学校, 辽宁 大连 116023; 4. 大连市水产研究所, 辽宁 大连 116023)

中图分类号: X173 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2015)09-0117-06
doi: 10.11759/hyqx20130702002

米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)常见于温带和热带浅海水域, 是一种典型的鱼毒性赤潮藻。近几年来, 米氏凯伦藻与其他藻类多次在渤海引发赤潮, 污染面积和次数逐渐增大。作为一种有毒藻类, 米氏凯伦藻能分泌溶血性毒素, 危害鱼类和无脊椎动物, 引起养殖生物死亡, 造成渔业经济损失^[1], 严重破坏了海洋生态系统, 甚至通过食物链的传播, 威胁到人类的健康。因此, 对米氏凯伦藻的监测和研究一直是各国海洋工作者的热点。本文就近年来国内外学者对米氏凯伦藻在分类及鉴定、生物行为及影响因素、监测研究、化学成分、生物活性等方面的研究进展进行综述。

1 分类及鉴定研究

米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)属于甲藻门(Pyrrophyta), 裸甲藻目(Gymnodiniales), 凯伦藻属(*Karenia*), 中文译名有米氏裸甲藻、米金裸甲藻和长崎裸甲藻。藻体单细胞, 营游泳生活, 细胞长 15.6~31.2 μm , 宽 13.2~24 μm , 是常见的有毒、有害赤潮藻。最早于 1935 年在日本京都 Gokasho 湾被发现^[2], 随后在美洲湾、英吉利海峡等全球海域都被发现^[3]。1998 年 3~4 月, 中国南海大鹏湾、深圳湾、珠江口及内伶仃岛一带海域和香港海域发生大规模米氏凯伦藻赤潮^[4], 之后, 由米氏凯伦藻引起的赤潮在中国沿海频繁爆发。

米氏凯伦藻的经典分类及鉴定标准主要依靠细胞的形态特征和生活史。形态特征是微藻的表形特征, 容易受环境的影响, 而且难以通过上述的检测对形态形似的物种加以定论, 造成误判。分子水平研究技术的出现和发展, 为凯伦藻属的经典分类及鉴

定提供了更多重要的科学依据。

米氏凯伦藻的分子鉴定方法主要有核糖体 DNA 序列分析法, 荧光原位杂交法, 实时荧光定量 PCR 技术, 恒温核酸扩增法(LAMP)等等。从分子水平鉴定藻类是近年来研究的热点, 解决了从形态上难以区分的藻类分类和鉴定的难点。但是每一方法都有自身的缺点, 核糖体 DNA 序列分析法是通过 PCR 扩增并测序来检测基因的方法, 此种方法灵敏度不够, 所需时间较长, 一般 2~3 h。荧光原位杂交法非常灵敏, 但是操作步骤繁琐, 杂交需要过夜。荧光定量 PCR 方法快速, 灵敏度高, 但是荧光定量 PCR 仪价格昂贵。PCR 法和荧光定量 PCR 法均需要用到 PCR 仪器, 荧光原位杂交检测周期长, 均不适合用于现场的快速检测, 而恒温核酸扩增法对引物的要求又较高, 因此, 国内外学者根据不同的需求采用适宜的方法对米氏凯伦藻进行研究。

目前, 采用分子生物学手段结合形态特征对米氏凯伦藻分类鉴定, 已经成为一种普遍接受的方式。2000 年, Hansen 等^[5]根据超微结构和分子生物学数据, 将米氏凯伦藻与短裸甲藻这两个种区分开并从裸甲藻属独立出来, 建立凯伦藻属。郑俊斌等^[6]对米氏凯伦藻的核糖体 18S rDNA 及其转录间隔(ITS) 区序列 PCR 扩增并测序, 获得 18SrDNA 和 ITS 基因序列长度分别为 1690 bp 和 654 bp。结合 12 种甲藻和 1 种硅藻作序列比较分析, 分别在 ITS1、ITS2 序列

收稿日期: 2015-02-22; 修回日期: 2015-05-10

基金项目: 辽宁省海洋与渔业科研计划项目(2011009, 201208); 辽宁省科学事业公益研究基金项目(2014004019, GY2014-019)

作者简介: 刘桂英(1980-), 女, 河北衡水人, 副研究员, 研究方向: 海洋药物化学, E-mail: liuguiying2006@126.com; 王年斌, 通信作者, 研究员, 研究方向: 海洋渔业环境保护, E-mail: wangnb_0415@yahoo.com.cn

寻找到适宜设计特异性引物探针区域,并用邻接法构建系统进化树,研究各藻种间亲缘关系。遗传距离分析结果显示米氏凯伦藻与短凯伦藻、微小卡罗藻等分类学上较近的藻种 18S rDNA 序列相似度为 97%~99%,远大于微小原甲藻、海洋原甲藻、塔玛亚历山大藻等在分类学上相距较远的藻种,各藻种间的 ITS 序列平均相似度明显低于 18S rDNA 序列。以 18S rDNA 与 ITS 序列构建的进化树拓扑结构相一致,18S rDNA 序列相对保守,适合进行属以上关系的系统进化分析,而 ITS 序列变异较大,适合种属间鉴别分析,且 ITS1 和 ITS2 是变异很大的区域,适合种间的分子特异性鉴定,这为快速鉴别赤潮多发藻米氏凯伦藻提供了依据。根据以上方法,他们成功利用核糖体 ITS 区分别设计出针对米氏凯伦藻与环状异帽藻的特异性 PCR 引物,通过特异性引物成功鉴定了两种外来入侵藻,为赤潮的预测预报提供分子鉴定基础^[7]。张凤英等^[8]利用环介导等温扩增反应(LAMP)^[9]技术对采自南海的米氏凯伦藻进行检测,针对米氏凯伦藻设计了 4 种引物并对其 LAMP 反应体系进行优化,得到了较为理想的实验结果,因此,从分子水平上鉴定藻类种间的差异是国内外学者关注的焦点。

2 生物行为及影响因素研究

米氏凯伦藻是重要的海洋赤潮甲藻,对海洋生态系统和渔业养殖有重要的影响。因此,米氏凯伦藻的生物行为及影响因素对于研究赤潮的发生发展机制,提出控制措施至关重要。

微藻生长受到多种环境因子(包括光照、盐度、温度、营养水平等)和生物因素的综合影响,其中氮、磷、硅等营养物质对微藻的自养生长起着至关重要的作用。因此,在磷限制的富营养化海域中爆发甲藻赤潮,很可能跟甲藻的一些特殊环境适应策略有关^[10],营养盐是赤潮发生的首要物质基础^[11],海洋微藻共存在这个生态系统中,共同利用同一种营养盐,形成对营养盐的竞争^[12]。因此,营养盐的变化能引起海洋微藻群落的变动,适宜藻类将占据优势,而不适宜的藻类将被抑制,甚至被淘汰。研究发现,米氏凯伦藻在硝酸盐和磷酸盐较高时能达到赤潮密度,引发赤潮,而且米氏凯伦藻能在赤潮密度下维持 3d^[13]。

米氏凯伦藻具有吞噬能力^[14-15],能够吞噬细菌、金藻和隐藻等,吞噬营养对米氏凯伦藻生长的促进作用明显,混合营养在甲藻赤潮的形成及发展过程

中可能发挥重要作用,因此,开展赤潮甲藻吞噬营养行为的研究有助于深入了解赤潮甲藻的营养竞争策略机制,解释某些甲藻赤潮在低营养盐浓度下爆发和长时间维持的机制^[16-18]。

相生相克作用又称他感作用,是指一种植物通过向体外分泌代谢过程中的化学物质,对其他植物产生直接或间接的影响^[19],它是影响浮游植物藻间相互作用和群落演替的重要因子^[20],在影响赤潮生消中起到重要作用^[21-22]。Roy 等^[23]发现某些微藻释放的有毒他感物质能抑制其他微藻的生长,从而在竞争中占据优势而成为赤潮爆发的潜在诱因。米氏凯伦藻和赤潮异弯藻均能产生具有一定细胞毒性的他感类物质^[24-25],当米氏凯伦藻的种群密度达到一定数量时,通过细胞的直接接触可使赤潮异弯藻的生长受到抑制。但是赤潮异弯藻对米氏凯伦藻的抑制作用远大于米氏凯伦藻对赤潮异弯藻的抑制,这说明了赤潮异弯藻细胞除了通过释放他感物质到环境中,还可以通过细胞接触影响米氏凯伦藻的生长和种群密度的大小^[26]。霍元子等^[27]研究发现大型绿藻浒苔组织内含有并在培养过程中分泌克藻物质,对米氏凯伦藻的生长表现出致死效应或较强的克生效应。在海洋生态系统中,利用大型海藻对海洋微藻的克生作用对赤潮进行生物防治,近年来也引起了较大关注。

3 赤潮米氏凯伦藻监测研究

2001~2006 年,中国共发生米氏凯伦藻赤潮 59 次,累计面积 25 920km²,是中国近海赤潮第二优势种^[28]。2009 年,东海区海域共发现赤潮 48 次,累计影响面积 7 244 km²,主要赤潮生物有中肋骨条藻、夜光藻、东海原甲藻、米氏凯伦藻、赤潮异弯藻等 10 种。与 2008 年相比,次数持平,单次发生赤潮面积较小,超过 500 km²的赤潮 3 次,仅占发生总次数的 6.25%^[29]。米氏凯伦藻还经常出现在福建沿海的赤潮群落中,有时与东海原甲藻一起形成双相赤潮,2001~2008 年福建沿岸海域共发生 17 次米氏凯伦藻赤潮(其中 9 次为第二优势种,多数与东海原甲藻混合形成赤潮),占赤潮发生总数的 9.2%,出现时间为 5~6 月,赤潮持续时间多数在 12 d 之内,有 1 次在连江近岸海域的赤潮持续时间最长,达 35 d^[30]。

由于海水的富营养化,有毒、有害赤潮发生频率和面积持续大幅度增加,给人类造成严重危害,因此,运用合理、全面的监测方法,及时有效地对引起

赤潮的米氏凯伦藻生物源进行监测,对于赤潮的预防和治理有重要意义。

边梅等^[31]运用实时荧光定量 PCR 技术检测了 2009 年春(5 月)、夏(8 月)、秋(11 月)3 个季节九龙江口 18 个站位水样中米氏凯伦藻的密度。这 3 个季节分别对应九龙江口水域的丰水期、平水期、枯水期。结果表明,在九龙江口水中米氏凯伦藻的检出密度为 $0\sim 2.3\times 10^4$ 个/L,其空间分布差异比较大,主要分布在厦门西港海域,其次是在高潮时的海门岛附近海域;海门岛以西水域几乎未监测到该藻的存在。米氏凯伦藻密度的季节分布差异也很明显,春、夏季的密度(最高检出值都达到了 2.3×10^4 个/L)明显高于秋季的密度(最高检出值仅为 5.4×10^3 个/L),本研究结果为厦门西港以及九龙江口水域赤潮的研究与监测提供参考。姚炜民等^[32]通过对 2005 年 5 月 30 日发生在浙江海域米氏凯伦藻赤潮的连续监测分析,表明米氏凯伦藻生长所需最佳水温为 $23.4\sim 23.8^\circ\text{C}$,其密度与水体中的无机氮呈负相关,与磷酸盐呈正相关。王金辉等^[33]对长江口赤潮多发区的有毒藻类和贝类原产地赤潮毒素的连续监测,表明米氏凯伦藻是该海域存在的多种潜在有毒藻类之一,并于 2005 年 5~6 月在长江口海域形成大规模赤潮,导致大量养殖鱼类死亡。稳定的温盐条件和富营养水质对米氏凯伦藻的生长繁殖是基本而且重要的条件^[30]。

米氏凯伦藻生物源的监测方法主要是通过实地采集水样进行实验室分析,得到的只是点状数据,难以对大面积水域情况进行计算。遥感技术是能够识别地面(水域)物质的性质和运动状态的现代化技术。目前,遥感技术对引起赤潮的藻类生物源进行监测的研究已有报道^[34-35],与传统监测方法相比,遥感监测技术具有宏观性、经济性、动态性、时效性等特点,但是对于米氏凯伦藻的监测研究还未见报道。

4 化学成分及生物活性研究

对米氏凯伦藻化学成分及生物活性的研究主要集中在米氏凯伦藻产生的毒素成分和毒素效应方面,毒素成分包括溶血毒素、活性氧和细胞毒素等,毒素效应主要是毒素成分引发细胞脂质过氧化,对细胞造成氧化损伤。

4.1 化学成分研究

4.1.1 溶血毒素

米氏凯伦藻产生的溶血毒素是造成鱼类大量死

亡的主要原因之一,其主要成分为糖脂类、糖苷类和饱和和多脂肪酸类化合物,也有少数蛋白质和肽类物质。Mooney^[36]发现米氏凯伦藻可产生长链脂肪酸,包括 OPA、廿二碳六烯酸、十六烷基四烯酸等,其中大部分为饱和脂肪酸,部分脂肪酸具有溶血活性,OPA^[37]能抑制细胞中 Mg^{2+} -ATP 酶和 Na^+ , K^+ -ATP 酶活性,使鱼鳃组织的细胞数量和形态发生变化。Parrish 等^[38]发现,从米氏凯伦藻中分离出的单半乳糖甘油二酯(MGDG)和双半乳糖甘油二酯(DGDG)均具有溶血毒性,占米氏凯伦藻脂类 17%。Yasumoto^[39]指出米氏凯伦藻溶血毒素是一种含有两个饱和脂肪酸的糖基二乙酰基甘油,水解之后产生一个多饱和和去糖基甘油酯和一个多饱和脂肪酸。Parrish^[38]认为,米氏凯伦藻中溶血活性最高的物质是十八烷基季戊烯酸,其次为含 20:5 的二半乳糖单酰基甘油。

溶血毒素造成鱼鳃小叶上皮细胞增生、邻近鳃叶粘连、上皮细胞脱落、鳃血管破裂、血细胞渗出等病理现象,进一步导致鱼类呼吸困难,导致鱼类死亡^[40]。通过对实验室培养的米氏凯伦藻的溶血活性研究表明^[41],米氏凯伦藻的溶血活性约为 $64.69\text{HUL}^{-1}\pm 6.43\text{HUL}^{-1}$,而且溶血活性随着温度($0\sim 37^\circ\text{C}$)的增加而增加,环境条件对米氏凯伦藻不同藻株溶血毒素也会产生影响^[42]。杨维东^[43]研究表明米氏凯伦藻溶血毒素的含量受其他藻类共同生长的影响。

4.1.2 活性氧

Yamasaki^[44]等指出米氏凯伦藻可产生超氧阴离子和过氧化氢,它们通过氧化细胞膜的膜脂,使核酸和蛋白质变性等途径,最终可能导致鱼类等动物死亡。米氏凯伦藻细胞内可能存在专门储存 H_2O_2 的细胞器,因为在米氏凯伦藻细胞悬液中加入过氧化氢酶后, H_2O_2 没有检出;加入 SOD 后,有微量 H_2O_2 检出;经超声波破裂的细胞悬液中 H_2O_2 含量明显高于经 SOD 处理的细胞悬液。

4.1.3 细胞毒素

到目前为止,国内外学者从米氏凯伦藻中分离得到分子质量比较大的梯状聚醚类化合物^[45-46],分子由 14 个以上环醚接合而成,分子质量超过 1000,其命名分别为 Gymnocin A 和 Gymnocin B。Gymnocin A 由 14 个相连的饱和醚环和 2-甲基-2-丁烯的侧链构成,分子式为 $\text{C}_{55}\text{H}_{80}\text{O}_{18}$,对小鼠淋巴瘤 P388 细胞有细胞毒性,通过研究^[46]推断它的细胞毒性与侧链 α 、 β 一不饱和乙醛基以及分子的长度有关。Gylnnocin B 是 Masayuki Satake 在 2005 年第一次从米氏凯伦藻

中提取出迄今分子质量最大的多环醚化合物, 含有 15 个醚环, 醚环之间是以反式并合, 分子式为 $C_{62}H_{92}O_{20}$, 和 Gymnocin A 在结构上有很大差异, 但它们的细胞毒性非常相近^[47]。

以上研究表明, 国内外学者对米氏凯伦藻化学成分研究主要集中在脂溶性成分上, 对水溶性成分的研究较少。目前发现主要成分为脂肪酸类、聚醚类等。由于米氏凯伦藻生长在海洋环境中, 与陆地环境差异很大, 可能会有独特的代谢方式和生化过程, 产生结构新颖奇特的化合物, 因此, 米氏凯伦藻的次级代谢产物有待于进一步研究, 为药物的开发研制提供重要的结构基础。

4.2 生物活性研究

米氏凯伦藻是鱼毒性有害赤潮的重要原因种, 国内外学者对其毒性机理和生物活性进行了大量的研究。孙科等^[48]初步研究了一株米氏凯伦藻对褶皱臂尾轮虫、卤虫幼体和黑褐新糠虾的毒性效应和机制, 发现米氏凯伦藻在较低密度下能明显减少轮虫的种群数量; 该藻的各组分毒性比较结果显示, 只有藻液和细胞重悬液有这种毒害作用, 而去藻过滤液和藻细胞破碎液的影响不明显, 表明这种毒害作用可能是由于活的藻细胞引起的; 在米氏凯伦藻中卤虫和黑褐新糠虾的存活数量明显下降。陈洋^[49]等通过研究米氏凯伦藻的极性脂类组分对小鼠皮肤细胞、人肝细胞、人肝癌细胞和小鼠神经瘤细胞的影响, 表明极性脂类组分对 4 株细胞的增殖均有显著的抑制作用, 而非极性组分和水溶性组分对 4 株细胞的增殖无明显的不利影响, 而且, 米氏凯伦藻内的未知毒性物质能够引发细胞脂质过氧化, 对细胞造成氧化损伤, 这与 OA、利玛原甲藻脂溶性组分和相关亚历山大藻未知毒性物质对哺乳类细胞的影响机制明显不同。因此, 米氏凯伦藻的毒性物质对肿瘤细胞的抑制活性, 潜在的药用价值值得去探索。Larry^[50]总结凯伦藻属至少包含 12 种藻类, 其中包括米氏凯伦藻, 含有生物毒素, 易于引起鱼类、贝类等的大量死亡, 能否通过食物链对人类健康产生影响需要进一步研究。

陈洋^[51]最近的研究发现, 米氏凯伦藻极性脂溶性成分通过脂质过氧化反应影响哺乳动物细胞, 对人类健康可能有潜在的威胁。刘婷婷等^[52]研究发现米氏凯伦藻的甲醇氯仿提取物具有明显的细胞毒性, 而且在细胞膜上的作用靶点也比较复杂。谭成玉等^[53]发现米氏凯伦藻 70%乙醇提取物在一定程度上

抑制肿瘤细胞培养液诱导的 ECV304 细胞的增殖。米氏凯伦藻的水提取和 70%乙醇提取物能够抑制肿瘤细胞诱导液对 ECV304 迁移的促进左右。史战鹏研究^[54]发现米氏凯伦藻提取物对 Hepg2、Hela 和 A549 等 3 种肿瘤细胞的增殖具有显著的抑制作用, 这种作用于细胞膜上 GM1 的含量无明显相关, 表明米氏凯伦藻提取物的作用靶点比较复杂。

通过以上研究表明, 虽然米氏凯伦藻的代谢产物有毒, 但却为开发成抗肿瘤药物或为新药设计提供了思路。

5 展望

综上所述, 国内外对米氏凯伦藻的研究报道主要集中在分类鉴定、生物行为、赤潮监测、形态特征、毒性机理等方面, 并取得了一定的进展, 但对其产生的有毒物质结构成分、制毒机制还远未阐明, 研究表明米氏凯伦藻的脂溶性成分具有溶血毒性、细胞毒性和鱼毒性, 对于水溶性成分的研究尚未有报道。如能从海洋天然化学的角度, 从米氏凯伦藻中发现、分离新型的活性天然产物, 不仅可以丰富海洋天然产物类型, 为开发新的有价值的海洋药物提供基础, 也为变废为宝、综合治理米氏凯伦藻赤潮提供新的模式。本文建议米氏凯伦藻的研究内容应主要集中在以下几个方面: (1)首先实验室能够规模化培养米氏凯伦藻, 为后续研究提供丰富的生物资源。(2)对米氏凯伦藻次生代谢产物进行深入系统的研究, 以期获得新型抗肿瘤的先导化合物, 为寻找新药物提供新思路。(3)深入研究米氏凯伦藻中毒性物质的构效关系, 从根本上阐明米氏凯伦藻的产毒机理, 为解决米氏凯伦藻的危害性提供科学基础。(4)米氏凯伦藻生物活性多样性的研究, 高通量活性筛选技术的发展为快速、大量测定化合物的生物活性提供了技术支持。

参考文献:

- [1] 龙华, 杜琦. 福建沿海米氏凯伦藻赤潮的初步研究[J]. 福建水产, 2005, 4: 22-26.
- [2] Oda M. The red tide of *Gymnodinium mikimotoi* sp.(MS) and the effect of mtefing copper sulphate to prevent the growth of it[J]. Dobutsugaku Zasshi, Zoological Society of Japan, 1935, 47(555): 35-48.
- [3] Allegraef G M, Anderson D M, Cembella A D. Manual on harmful marine microalgae[M]. Paris: UNESCO,

- 2003: 2033-2043.
- [4] 吕颂辉, 黄凯旋. 米氏凯伦藻在三种无机氮源的生长情况[J]. 生态环境, 2007, 16(5): 1337-1341.
- [5] Hansen G, Daugbjerg N, Henriksen P. Comparative study of *Gymnodinium mikimotoi* and *Gymnodinium aureolum*, Comb. Nov (= *Gymnodinium aureolum*) based on morphology, pigment composition, and molecular data [J]. Phycol, 2000, 36: 394-410.
- [6] 郑俊斌, 张凤英, 马凌波, 等. 米氏凯伦藻 18S rDNA 和转录间隔区序列分析[J]. 上海海洋大学学报, 2009, 18(6): 680-685.
- [7] 郑俊斌, 张凤英, 马凌波, 等. 两种常见外来入侵赤潮藻的 PCR 鉴定[J]. 海洋渔业, 2009, 31(3): 325-329.
- [8] 张凤英, 徐兆礼, 马凌波, 等. 环介导恒温扩增技术快速检测米氏凯伦藻方法的建立[J]. 海洋学报, 2009, 31(6): 170-175.
- [9] Notom I T, Okayama H, Masubuchi H, et al. Loop mediated isothermal amplification of DNA[J]. Nucleic Acids Res, 2000, 28: 63.
- [10] Feuga A M. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends[J]. J Appl Phycol, 2000, 12(3-5): 527-534.
- [11] Paerl H W. Coastal eutrophication and harmful algal blooms: Importance of atmospheric deposition and groundwater as “new” nitrogen and other nutrient sources[J]. Limnol Oceanogr, 1997, 42(5): 1154-1165.
- [12] Hu H H, Zhang J, Chen W D. Competition of bloom-forming marine phytoplankton at low nutrient concentrations[J]. Journal of Environmental Sciences, 2011, 23(4): 656-663.
- [13] 韩秀荣, 李雁宾, 王修林, 等. 营养盐对东海浮游植物生长影响的现场培养实验[J]. 海洋环境科学, 2008, 2: 57-61.
- [14] Jeong H J, Park J Y, Nho J H, et al. Feeding by Red-Tide Dinoflagellates on the Cyanobacterium *Synechococcus*[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2005, 41(2): 131-143.
- [15] Glibert P M, Burkholder J M, Kana T M, et al. Grazing by *Karenia brevis* on *Synechococcus* enhances its growth rate and may help to sustain blooms[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2009, 55(1): 17-30.
- [16] Stoecker D, Tillmann U, Granéli E. Phagotrophy in harmful algae[J]. Ecology of Harmful Algae, 2006, 189: 177-187.
- [17] Burkholder J M, Glibert P M, Skelton H M. Mixotrophy a major mode of nutrition for harmful algal species in eutrophic waters [J]. Harmful Algae, 2008, 8: 77-93.
- [18] Smayda T J, Reynolds C S. Strategies of marine dinoflagellate survival and some rules of assembly [J]. Journal of Sea Research, 2003, 49: 95-106.
- [19] Rice E L. *Allelopathy* 2nd edn[M]. Academic Press: London, 1984: 422.
- [20] Keating K I. Blue-green algal inhibition of diatom growth: transition from mesotrophic to eutrophic community structure[J]. Science, 1978, 199: 971-973.
- [21] Honjo T. The biology and prediction of representative red tide associated with fish kills in Japan[J]. Research of Fish Science, 1994, 2, 225-253.
- [22] Pan K H, Wang J F, Zhu B H. Progress on study of competition among marine microalgae[J]. Marine Sciences, 2007, 31(5), 58-62.
- [23] Roy S, Alam S, Chattopadhyay J. Competing effects of toxin-producing phytoplankton on overall plankton populations in the Bay of Bengal[J]. Bulletin of Mathematical Biology, 2006, 68: 2303-2320.
- [24] Uchida T, Toda S, Matsuyama Y, et al. Interactions between the red tide dinoflagellates *Heterocapsa circularisquama* and *Gymnodinium mikimotoi* in laboratory culture[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1999, 241: 285-299.
- [25] Zhou C X, Fu Y J, Yan X J. Hemolytic activity studies of several harmful alga strains[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2007, 2: 78-82.
- [26] 赵晓玮, 唐学玺, 王悠. 两种海洋赤潮微藻赤潮异弯藻和米氏凯伦藻之间的相互作用[J]. 植物生态学报, 2009, 33(5): 958-965.
- [27] 霍元子, 田千桃, 徐栅楠, 等. 浒苔对米氏凯伦藻生长的克生作用[J]. 海洋环境科学, 2010, 29(4): 496-499.
- [28] 林凤翔, 关春江, 卢兴旺. 近年来全国赤潮监控工作的成效以及存在问题与建议[J]. 海洋环境科学, 2010, 29(1): 148-151.
- [29] 国家海洋局. 东海区海洋环境质量公报[R]. 北京: 国家海洋局环境监测中心, 2009.
- [30] 许翠娅, 黄美珍, 杜琦. 福建沿岸海域主要赤潮生物的生态学特征[J]. 台湾海峡, 29(3): 434-441.
- [31] 边梅, 郑森林, 刘文华, 等. 应用实时荧光定量 PCR

- 技术研究九龙江口水域米氏凯伦藻的分布[J]. 台湾海峡, 2012, 31(1): 65-71.
- [32] 姚炜民, 潘晓东, 华丹丹. 浙江海域米氏凯伦藻赤潮成因的初步研究[J]. 水利渔业, 2007, 27(6): 57-58.
- [33] 王金辉, 秦玉涛, 刘材材, 等. 长江口赤潮多发区潜在有毒藻类和赤潮毒素的初步调查[J]. 海洋环境科学, 2006, 25(1): 15-19.
- [34] Tomlinson M C, Stumpf R P, Ransibrahmanakul V, et al. Evaluation of the use of SeaWiFS imagery for detecting *Karenia brevis* harmful algal blooms in the eastern Gulf of Mexico[J]. Remote Sens Environ, 2004, 91(3/4): 293-303 .
- [35] Hu C M, Karger F E, Taylor C, et al. Red tide detection and tracing using MODIS fluorescence data: A regional example in SW Florida coastal waters[J]. Remote Sens Environ, 2005, 97(3): 311-321.
- [36] Mooney B D, Nichols P D, Salas M F, et al. Lipid, fatty acid, and sterol composition of eight species of *Karenia* (Dinophyta): chemotaxonomy and putative lipid phycotoxins[J]. Journal of Phycology. 2007, 43(1): 101-111.
- [37] Sola F, Masoni A, Fossat B, et al. Toxicity of fatty acid 18: 5n3 from *Gymnodinium mikimotoi*: I. Morphological and biochemical aspects on *Dicentrarchus labrax* Gill and intestine[J]. Journal of Applied Toxicology, 1999, 19(4): 279-284.
- [38] Parrish C C, Bodenec G, Gentien P. Haemolytic glycolipids from *Gymnodinium* species[J]. Phytochemistry, 1998, 47(5): 783-787.
- [39] Yasumoto T, Underdal B, Aune T, et al. Screening for hemolytic and ichthyotoxic components of *Chrysochromulina polylepis* and *Gyrodinium aureolum* from Norwegian coastal waters. In: Graneli E, Sundstrom B, Edler L, et al. Toxic Marine Phytoplankton[M]. New York: Elsevier, 1990: 436- 440.
- [40] Wang Z H, Yin Y W, Qi Y Z, et al. Histopathological changes in fish gills during *Gymnodinium mikimotoi* red tide in Guishan Island area, the South China Sea[J]. Acta Oceanol Sin, 2001, 23(1): 133-138.
- [41] 崔伟民, 杨维东, 刘洁生, 等. 米氏凯伦藻溶血毒素的溶血反应特征[J]. 热带亚热带植物学报, 2009, 17(3): 237-241.
- [42] Neely T, Campbell L. A modified assay to determine hemolytic toxin variability among *Karenia* clones isolated from the Gulf of Mexico[J]. Harmful Algae, 2005, 5: 592-598.
- [43] Yang W D, Zhang N S, Cui W M, et al. Effect of co-existing microalgae and grazers on the production of hemolytic toxins in [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2011, 29(6): 1155-1163.
- [44] Yamasaki Y, Kim D I, Matsuyama Y, et al. Production of superoxide anion and hydrogen peroxide by the red tide dinoflagellate *Karenia mikimotoi*[J]. J Bioseoi Bioeng, 2004, 97(3): 212-215.
- [45] Stake M, Shoji M, Oshima Y, et al. Cymnocin-A, a cytotoxin polyether from the notorious red tide dinoflagellate, *Gymnodinium mikimotoi*[J]. Tetra Lett, 2002, 43: 5829-5832.
- [46] Stke M, Tanaka Y, Tshikura Y, et al. Cymnocin-B with the largest contiguous polyether rings from the red tide dinoflagellate, *Karenia (Formerly gymnodinium) mikimotoi*[J]. Tetra Lett, 2005, 46(20): 3537-3540.
- [47] Tsukano C, Sasaki M. Structure-activity relationship studies of gymnocin-A[J]. Tetrahedron Letters, 2006, 47: 6803-6807.
- [48] 孙科, 颜天, 周名江, 等. 米氏凯伦藻对褶皱臂尾轮虫、卤虫和黑褐新糠虾存活的影响[J]. 海洋科学, 2010, 34(9): 76-81.
- [49] 陈洋. DSP 等赤潮毒素对哺乳类细胞的毒性效应及机制研究[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2008.
- [50] Larry E. Brand, Lisa Campbell, Eileen Bresnan. *Karenia*: The biology and ecology of a toxic genus[J]. Harmful Algae, 2012, 14: 156-178.
- [51] Chen Y, Yan T, Rencheng Y U, et al. Toxic effects of *Karenia mikimotoi* extracts on mammalian cells[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2011, 29(4): 860-868.
- [52] 刘婷婷, 史战鹏, 李宏业, 等. 米氏凯伦藻甲醇氯仿提取物的细胞毒性分析[J]. 卫生研究, 2012, 41(3): 405-409.
- [53] 谭成玉, 赵莹, 吴迪, 等. 海洋微藻体外抗肿瘤血管生成活性的研究[J]. 中国海洋药物杂志, 2011, 30(6): 13-17.
- [54] 史战鹏. 米氏凯伦藻提取溶血作用及细胞毒性研究[D]. 暨南大学, 2011.

(本文编辑: 梁德海)