

甲藻赤潮及其毒素的产生机制 及夜光藻氮代谢途径*

周成旭 吴玉霖

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

提要 依据80—90年代国内外有关资料,从甲藻分类、甲藻室内培养、甲藻毒素及其生物合成四个方面,综合评述甲藻赤潮及其毒素最新研究进展;并结合作者自己的研究结果,对夜光藻赤潮的产生与调控机理模型提出一种理论假说,这一假说的验证将为全面阐明夜光藻生活史及赤潮成因和机理提供分子水平的框架路径。

关键词 甲藻 赤潮 毒素 夜光藻 形成机理

学科分类号 X55

甲藻(Dinoflagellates)具有特殊的进化学地位,它是间核生物,介于原核生物与真核生物之间,又介于动物与植物之间。甲藻有非常特殊的生殖与代谢途径,故能产生化学结构非常特殊的代谢产物。因此,研究甲藻毒素的产生与调控机理不仅在基础生物学方面具有十分重要的意义,而且,从应用角度看,这种研究既有助于根除甲藻赤潮与毒素的环境公害,又使其结构独特的次生代谢产物为人类利用。只有阐明甲藻赤潮及毒素产生与调控的机理(Trigger and Regulation System),才能将“有效预防”和“变毒为宝”融为一体。本文就这一问题依据国内外有关研究成果予以评述,以期对赤潮的研究与治理提供参考。

1 甲藻赤潮与毒素研究的新进展

1.1 甲藻的分类

研究甲藻代谢问题的先决条件是解决定种的问题和室内培养的问题。甲藻的分类比较困难。随着一些新技术的发展和运用,甲藻的分类已进入分子分类学时代,例如,除了传统的形态学分类和甲藻甲板形态分类外,运用于甲藻分类和鉴定的新技术有立体分析法(Costas *et al*, 1988)、荧光凝集素法(Costas *et al*, 1994)、超微结构法(Fritz *et al*, 1989)、染色体与核酸分析法(Partensky *et al*, 1988)、同工酶电泳分析法(Cembella *et al*, 1985)等,这些技术的发展与成熟将使甲藻的分类标准具有多元特征,随着数据处理的计算机化和快速细胞计数技术的普及,将能够及时分析出浮游植物的组成及赤潮发生的潜在危险。

1.2 甲藻的室内培养

* 国家自然科学基金资助项目,39600028号,39790110号。周成旭,女,出生于1968年6月,硕士,助理研究员, Fax: 0086-0532-2870882

收稿日期:1997-01-23,收修改稿日期:1998-10-14

攻克甲藻室内培养的难题,是甲藻生理生态学研究的重点内容。由于甲藻可以同时存在自养或异养两种营养方式,有些甲藻还可以在恶劣环境条件下形成休眠孢囊作底栖或漂移生存数年,一旦环境条件好转,就萌发成游动细胞,造成赤潮生物的蔓延和迁移。由于室内的培养条件与自然条件差别较大,有些甲藻例如鳍藻(*Dinophysis* sp.),室内培养一直没有成功,即使成功地实现室内培养,如 *Alexandrium* spp., *Amphidinium* spp., *Gambierdiscus toxicus*, *Gymnodinium breve*, *G. catenatum* 及 *Ostreopsis* spp., 甲藻毒素的产生还是问题,例如 *G. toxicus* 的实验室培养液中只分析到刺尾鱼毒素(Maitotoxin)而没有西加毒素(Shimizu, 1993)。另外,由于许多分类学地位上差别很大的甲藻产生相同的毒素,为此,有人据此推测这可能与甲藻内共生的细菌有关。因此,有关内共生的理论很有吸引力,而且 Kodama 等(1988)从一种日本产的亚历山大藻分离出内共生细菌,加以培养后,在其培养液中鉴定出石房蛤毒素,但有关的研究实质性进展很慢。

综上所述,尽管尚存在诸多问题,但已取得的研究结果为代谢产物的研究还是提供了极大帮助。(1)定种后才能进行纯种培养及其代谢物的比较。(2)室内培养不成功的甲藻,其工业利用前途小,而培养方便且密度高的种应当作深入研究。(3)应当尽可能同时研究甲藻及其共生细菌的生存关系与代谢关系,特别是共生细菌的发酵培养具有工业化应用前途。这些研究所提出的疑难问题是:分类研究表明,分类地位上差距很大的不同甲藻种类,能够产生相同的毒素;培养结果表明,同种甲藻的产毒能力有很大的个体差异,而产毒或不产毒的甲藻的基因图谱没有本质差异。因此,分子水平的研究尤其是从代谢角度阐明甲藻赤潮发生及毒素产生的机制,是特别值得注意的。

1.3 甲藻毒素

甲藻赤潮与毒素的研究,特别是有关甲藻次生代谢产物的药理学和生物化学的研究已取得很大进展。一些新型的化合物结构与活性被发现(表 1),这些化合物与甲藻赤潮产生及其对环境危害的关系尚不清楚。从表 1 可以看出,这些化合物的药理实验表明,大多具有抗真菌、抗细菌及生理调节作用,也许在自然界生态环境中就能够对其它的微生物与浮游生物造成植物间相互抑制作用(又名他感作用, Allelopathy)。至于贝类毒素,它们是造成环境危害的主要“肇事者”,这些甲藻毒素能与细胞膜离子通道结合,阻碍细胞膜正常离子的流动,造成膜电位反常,致人出现晕眩、休克等神经症状。这些毒素已作为神经生物学重要的药理工具,是细胞膜离子通道的分子探针,具有举足轻重的作用。例如,石房蛤毒素(Saxitoxin)是钠离子通道的阻断剂,短裸甲藻毒素(Brevetoxin)是钠离子通道的激活剂,刺尾鱼毒素是钙离子通道的激活剂等。当然,在分子水平上阐明甲藻毒素的作用机理也有助于深入理解甲藻赤潮及其毒素所造成的环境危害。

1.4 甲藻毒素的生物合成

甲藻通常是将有机分子先分解成随机碎片再进行合成毒素的,这使得甲藻毒素的生物合成研究很困难,采用稳定同位素标记化合物结合核磁共振测定的方法可以解决这个问题。Shimizu 研究小组(1990, 1993)采用 C、H、N 的稳定同位素,标记乙酸、精氨酸和 S-腺苷蛋氨酸来研究石房蛤毒素的生物合成与代谢途径,结果发现:3 个精氨酸分子和 1 个甲硫氨酸分子及乙酸分子参与了石房蛤毒素的生物合成。Shimizu 小组还对结构十分复杂的短裸甲藻毒素的生物合成途径进行了初步研究,结果表明,琥珀酸、甲羟戊二酸、丙

酸、乙酸及 α -酮戊二酸参与了短裸甲藻毒素的生物合成。甲藻能够利用外源性氨基酸作为氮源,而将剩余的有机酸骨架用于合成次生代谢产物,这一特点正介于动物与植物之

表1 部分新型甲藻毒素简介

Tab.1 New dinoflagellate toxins except shellfish toxins

化合物	毒源藻	化学结构与和生物活性	文献
Gambiericacid	<i>Gambierdiscus toxicus</i>	聚醚,抗真菌	Nagai等 (1992)
Amphidinol	<i>Amphidinium klebsii</i>	多羟基多烯硫酸酯,抗真菌	Kobayashi等 (1993)
Gonyauline	<i>Gonyaulax polyedra</i>	含硫有机酸,调节发光节律	Nakamura等 (1995)
Goniodomin	<i>Goniodoma pseudogoniaulax</i>	大环内酯,抗真菌	Murakami等 (1988)
Heterosigma glycolipid	<i>Heterosigma akashiwo</i>	糖脂,溶血作用	Kobayashi等 (1995)
Prorocentrolide	<i>Prorocentrum lima</i>	大环内酯,活性不明	Torigoe等 (1988)

间。

2 从代谢角度看甲藻赤潮的产生——夜光藻氮代谢模型

虽然甲藻赤潮成因问题已提出多年,但由于甲藻赤潮现场跟踪困难,大多数是在甲藻细胞数已达较高数量时才开始观测,连续性也难保证,加上甲藻赤潮产生时环境因子多种多样,很难加以完全阐明,因此造成甲藻赤潮成因与调控的机理一直不明确。

夜光藻赤潮是中国沿海以及国外许多国家沿海的常发性赤潮,该种赤潮发生频率最高、面积最大,赤潮发生时面积可达上百甚至上千平方公里,密度可达 2×10^5 cell/L,造成赤潮发生海区或养殖区的水质变坏,影响甚至致死海洋动物或人工养殖海珍品。对该种赤潮发生机理的研究将对预防和治理提供重要的理论和实践基础。综观国内外有关夜光藻及其赤潮发生的研究,主要是集中在野外调查、赤潮发生的监测、室内生理生态研究等方面,对赤潮发生时聚集机理的探索也多从生物的理化、水文、气象等宏观角度出发(邹景忠等,1983; Schaumann *et al*, 1988; 蒋晓山等,1992)。由于夜光藻是甲藻中非常特殊的一个种类(Dikarev, 1983),其生活史一直没完全阐明(Schnepf *et al*, 1993; 周成旭等,1994a),导致夜光藻赤潮发生最基础的原因没有找到,夜光藻存在特殊的减数分裂状态,其产生的减数分裂个体以及小配子的生活史、生理意义一直没有确立,因此夜光藻完整生活史的建立不仅具有重大的生物学意义,而且对探讨夜光藻赤潮成因机理也有指导性意义。作者根据多年的研究与参考分析文献资料(吴玉霖等,1994; 周成旭等,1994a, b; Buskey, 1995; Balch *et al*, 1984),认为搞清夜光藻氮代谢过程是阐明其生活史及赤潮发生机理的关键,并提出夜光藻氮代谢途径的理论假说(图1)。

夜光藻属于异养性甲藻,藻体内常有高含量的 $\text{NH}_3\text{-N}$ (Okachi *et al*, 1976),但有关 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的生理生化意义以及氮代谢途径和作用尚不明确。就氮代谢而言,异养的夜光藻通过摄食蛋白质获得氮源,体内高含量的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 通过蛋白质脱氨酶脱氨而富集。当氨含量较高但尚在细胞自身调节范围内时,会对脱氨酶产生反馈作用,从而抑制细胞的能量代谢体系(正常存活路线),使夜光藻细胞的代谢走向另一条路线——减数分裂(夜光藻分裂的方式有两种:有丝分裂和减数分裂。有丝分裂存在于细胞正常代谢过程,减数分裂则表现出特殊性)。减数分裂中核苷酸碱基的大量合成(氨基与二氧化碳可以合成氨甲酸,是嘧啶生物合成前体),可以使细胞消除过量 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的毒害作用,即减数分裂可作为调控自

身体内 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度的手段。而当氨氮浓度超过正常代谢及调控范围时, 会促进异常增殖信号(如有机胺?)的产生, 从而促使细胞大量产生。这一过程的确认, 将为夜光藻减数分裂的生理意义、夜光藻赤潮成因机理提供新的理论依据。要验证这一假说, 关键在于通过

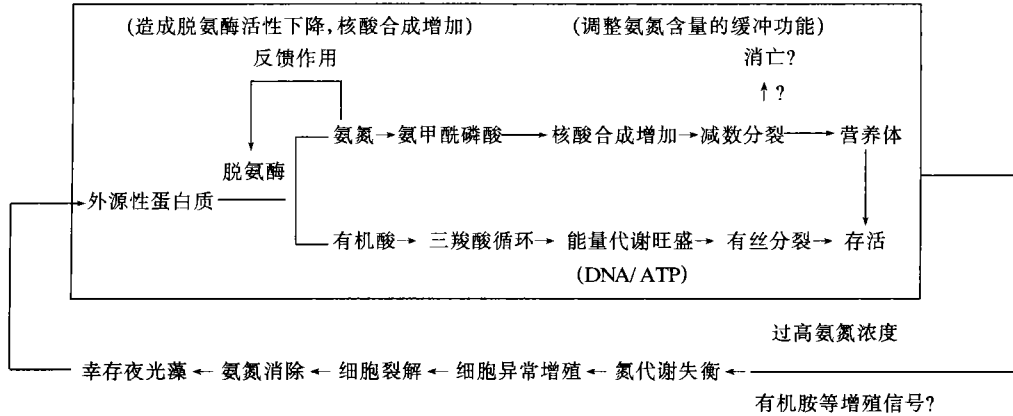


图1 夜光藻氮代谢途径的理论假说(框内为细胞的正常代谢及调控途径)

Fig.1 Proposed metabolism pathway of nitrogen in *Noctiluca scintillans*

生理、生化实验确定夜光藻体内氮代谢的过程与意义。

从代谢角度来阐述甲藻赤潮发生以及甲藻毒素的产生和调控, 是一个非常复杂的问题, 它关系到甲藻及其环境因子的相互作用、甲藻遗传基因或质粒的突变与传递, 也关系到甲藻与其它生物的相互作用, 如捕食与被捕食、共生效应等, 所有这些方面的研究都与甲藻毒素产生与调节机理研究有着密切的关系。应该看到, 在研究甲藻赤潮中, 有关甲藻生物合成与代谢过程中的反应酶及基因调控基本还是空白, 因此, 完全搞清甲藻的产毒机理还要做大量的研究工作。

参 考 文 献

- 吴玉霖, 周成旭, 张永山, 1994. 赤潮生物夜光藻的室内培养. 海洋与湖沼, 25(2): 165—167
- 邹景忠, 董丽萍, 秦保平, 1983. 渤海富营养化和赤潮生物生态研究. 海洋环境科学, 2(2): 41—45
- 周成旭, 吴玉霖, 1994a. 赤潮生物夜光藻的繁殖. 海洋与湖沼, 25(2): 162—164
- 周成旭, 吴玉霖, 邹景忠, 1994b. 赤潮生物夜光藻的营养动力学. 海洋与湖沼, 25(2): 152—157
- 蒋晓山, 洪君超, 王桂兰等, 1992. 长江口赤潮多发地区夜光藻(*Noctiluca scintillans*)赤潮发生过程分析. 暨南大学学报, 13(3): 134—139
- Balch W M, Haxo F T, 1984. Spectral properties of *Noctiluca miliaris* Suriray, a neterotrophic dinoflagellate. J Plankton Res, 6(3): 515—525
- Buskey E J, 1995. Growth and bioluminescence of *Noctiluca miliaris* on varying algal diets. J Plankton Res, 7(1): 29—40
- Cembella A D, Taylor F J R, 1985. Biochemical Variability Within the *Protogonyaulax tamarensis* / *catenella* Species Complex. New York: Elsevier Science Publishing, 55—60
- Costas E, Fernandez J L, Navarro M et al 1988. A comparative morphometrical study of the ultrastructural organization in six dinoflagellate species using stereology. Bot Mar, 31: 555—562
- Costas E, Rodas V L, 1994. Identification of marine dinoflagellates using fluorescent lectins. J Phycol, 30:

987—990

Dikarev V P, 1983. Lipid composition of *Noctiluca miliaris* and problem of its taxonomic position. *Sov J Mar Biol*, 8(5):14—17

Fritz L, Anderson D M, Triemer R E, 1989. Ultrastructural aspects of sexual reproduction in the red tied dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis*. *J Phycol*, 25:95—107

Kobayashi J, Ishibashi M, 1993. Bioactive metabolites of symbiotic marine microorganisms. *Chem Rev*, 1993: 1753—1769

Kobayashi J, Takahashi M, Ishibashi M, 1995. Biosynthetic studies of amphidinolide J: explanation of the generation of the unusual odd-numbered macrocyclic Lactone. *J Chem Soc Chem Commun*, 16:39—40

Kodama M, Ogata T, Sato S, 1988. Bacterial production of saxitoxin. *Agric Biol Chem*, 52:1075—1097

Murakami M, Makabe K, Yamaguchi K *et al*, 1988. Goniiodomin A, a novel polyether macrolide from the dinoflagellate *Goniodoma pseudogoniaulax*. *Tetrahedron Lett*, 29:1149—1152

Nagai H, Murata M, Torigoe K *et al*, 1992. Gambieric acids: Unprecedented potent antifungal substances isolated from cultures of a marine dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*. *J Am Chem Soc*, 114:1102—1103

Nakamura H, Asari T, Murai A *et al*, 1995. Zooxanthellatoxin-A, a potent vasoconstrictive 62-membered Lactone from a symbiotic dinoflagellate. *J Am Chem Soc*, 117:550—551

Okachi T, Nishio S, 1976. Identification of ammonia as the toxic principle of red tide of *Noctiluca miliaris*. *Bull Plankton Soc Jpn*, 23(2):25—30

Partensky F, Vaultot D, Coute A *et al* 1988. Morphological and nuclear analysis of the bloom-forming dinoflagellates *Gyrodinium aureolum* and *Gymnodinium nagasakiense*. *J Phycol*, 24:408—415

Schaumann K, Gerdes D, Hesse K J, 1988. Hydrographic and biological characteristics of a *Noctiluca santillans* red tide in the German Bight, 1984. *Meeresforschung / Rep Mar Res*, 32(2):77—91

Schnepf E, Drebs G, 1993. Anisogamy in the dinoflagellate *Noctiluca*? *Helgoland Meeresunters*, 47:265—273

Shimizu Y, Gupta S, Krishna A V, 1990. *Toxic Marine Phytoplankton*. Copyright by Elsevier Science Publishing, Co., Inc, 62—73

Shimizu Y, 1993. *Marine Biotechnology Vol. 1: Pharmaceutical and Natural Products*. Amsterdam: Elsevier, Plenum Press, 391—410

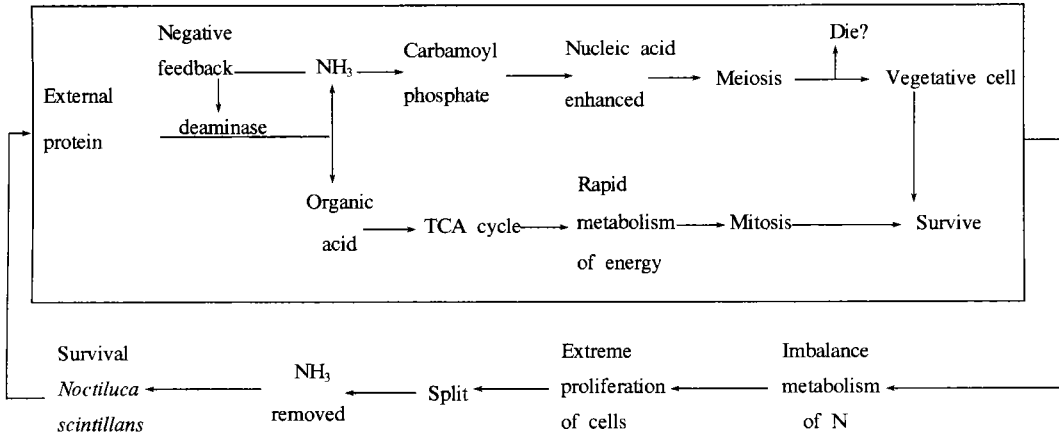
Torigoe K, Murata M, Yasumoto T *et al*, 1988. Proocentrolide, a toxic nitrogenous macrocycle from a marine dinoflagellate, *Prorocentrum lima*. *J Am Chem Soc*, 110:7876—7877

THE TRIGGER AND REGULATION MECHANISM OF DINOFLAGELLATE RED TIDE AND ITS TOXIN AND METABOLISM PATHWAY OF NITROGEN IN *NOCTILUCA SCINTILLANS*

ZHOU Cheng-xu, WU Yu-lin

(Institute of Oceanology, The Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071)

Abstract In this article the studies on dinoflagellate red tide and its toxin in four aspects, i.e. taxonomy, incubation, toxin and biosynthesis, are reviewed. Moreover, the authors proposed a mechanism on metabolism pathway of nitrogen to elucidate the physiological balance of *Noctiluca scintillans*, which may be the first theoretical assumption at the molecular level:



Key words Dinoflagellates Red tide Toxin *Noctiluca scintillans* Formation mechanism

Subject classification number X55