

四种/株亚历山大藻 (*Alexandrium*) 毒性的比较研究*

陈洋^{1,2} 颜天^{1①} 谭志军^{1,2} 王丽平^{1,2} 周名江¹

(1. 中国科学院海洋研究所海洋生态与环境科学重点实验室 青岛 266071; 2. 中国科学院研究生院 北京 100039)

提要 通过对塔玛亚历山大藻 (ATHK 和 AT-6 藻株)、链状亚历山大藻 (ACDH 藻株) 和微小亚历山大藻 (AM-1 藻株) 的 PSP 毒素含量和组成以及它们分别对轮虫、黑褐新糠虾和鲈鱼存活影响的比较研究发现: 塔玛亚历山大藻 AT-6 藻株不产生麻痹性贝毒毒素 PSP, 而塔玛亚历山大藻 ATHK、链状亚历山大藻 ACDH 和微小亚历山大藻 AM-1 均产生 PSP 毒素, 其总含量分别为 19.74、5.395、5.57 fmol/cell (2.60、0.36、1.61 pg STX eq/cell)。塔玛亚历山大藻 AT-6 对轮虫、黑褐新糠虾和鲈鱼这三种生物均没有不利影响; 对于轮虫, 塔玛亚历山大藻 ATHK 和链状亚历山大藻 ACDH 的 96hLC₅₀ 分别为: 200 和 1200 cells/ml, 而微小亚历山大藻 AM-1 无不利影响; 对于糠虾, 塔玛亚历山大藻 ATHK、链状亚历山大藻 ACDH 和微小亚历山大藻 AM-1 的 96hLC₅₀ 分别为 7000、11000、16000 cells/ml; 对于鲈鱼, 这三株藻的 96hLC₅₀ 分别为 3700、4000、20000 cells/ml。四株亚历山大藻对三种生物的毒性大小与其 PSP 毒素含量和组成无直接的相关关系, 其毒性作用可能来自其他未知毒性物质。塔玛亚历山大藻 ATHK 不同组分分别对三种生物的毒性比较研究表明: 藻细胞重悬液和藻液对三种生物的不利影响最为显著, 去藻过滤液和细胞碎片对轮虫和鲈鱼没有明显影响, 但糠虾的存活率有所下降; 细胞内容物对轮虫和糠虾也无影响, 但对鲈鱼的存活有一定影响。以上研究表明: 不同亚历山大藻的毒性大小存在差别, 其对不同生物的危害机制也不相同, 除 PSP 毒素外, 亚历山大藻可能还存在其他的毒性物质。

关键词 亚历山大藻, PSP 毒素, 轮虫, 黑褐新糠虾, 鲈鱼

中图分类号 X55

有害赤潮 (harmful algal blooms HABs) 的频繁暴发对自然海洋生态系统产生了显著的不利影响 (Smayda, 1990; Burkholder, 1998), 作为有害赤潮的一种主要危害形式, 一些赤潮生物因产生威胁人类健康和生命的藻毒素而备受关注 (Van Dolah, 2000)。自 20 世纪 80 年代以来, 赤潮藻对各种海洋生物和生态系统的影响研究也开始受到重视 (Landsberg, 2002)。甲藻亚历山大藻是一种世界沿海分布较广、危害严重的能产麻痹性贝毒毒素 PSP (Paralytic Shellfish Poisoning) 的赤潮原因种, 在我国南北海域均有分布, 并在东海长

江口附近发生过有毒的链状亚历山大藻 (*Alexandrium catenella*) 赤潮 (周名江等, 2003)。目前国内外对于亚历山大藻对海洋生物的致毒机制仍存在不同看法 (Ogata *et al.*, 1986; Lush *et al.*, 1996; Yan *et al.*, 2001)。由于以往大多研究是针对不同亚历山大藻藻株及不同生物分别进行的, 因而难以进行毒性效应的比较研究。为进一步了解亚历山大藻的危害及其机制, 作者针对分布于我国沿海的塔玛亚历山大藻 (ATHK 和 AT-6 藻株)、链状亚历山大藻 (ACDH 藻株) 和微小亚历山大藻 (AM-1 藻株), 进行了四株藻产麻痹性贝毒毒

* 国家重点基础研究规划资助项目, 2001CB409700 号。陈洋, 硕士, E-mail: chenyang@ms.qdio.ac.cn

① 通讯作者: 颜天, 研究员, E-mail: tianyan@ms.qdio.ac.cn

收稿日期: 2005-09-07, 收修改稿日期: 2006-03-22

素 PSP 的比较研究,并以轮虫、黑褐新糠虾和鲈鱼为实验对象,分别代表海洋中三类重要的生物(微型浮游动物、浮游甲壳类及鱼类),比较研究了这四株亚历山大藻分别对这三种典型海洋生物的毒性效应,并探讨了亚历山大藻的危害机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

塔玛亚历山大藻 (*Alexandrium tamarense*) ATHK 藻株分离自南海香港海域,链状亚历山大藻 (*A. catenella*) ACDH 藻株分离自东海长江口海域,微小亚历山大藻 (*A. minutum*) AM-1 藻株分离自台湾,这三株藻均由暨南大学提供;不产生 PSP 毒素的塔玛亚历山大藻 AT-6 藻株由 Dr. D. Anderson (WHOI, US) 提供,小球藻为实验室常年保种培养。所有亚历山大藻均在实验室内用 2L 三角烧瓶以 *f*/2-Si 培养液单种培养,小球藻用绿藻培养液,温度为 $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$,光照强度为 3000lx,光暗比为 14h:10h,选用指数生长中期的藻液用于实验。实验前,取藻样以鲁哥氏液固定后,用 1.5ml 浮游植物计数框在显微镜下计数藻细胞密度。

褶皱臂尾轮虫 (*Brachionus plicatilis*) 和黑褐新糠虾 (*Neomysis awatschensis*) 经驯化,在中国科学院海洋研究所生态毒理实验室内多年多代连续培养。鲈鱼 (*Lateolabrax japonicus*) 购于青岛市沙子口镇,在实验室驯养一周后用于实验,实验时幼鱼体长平均为 (2.5 ± 0.2) cm。作为糠虾和鲈鱼饵料的卤虫 (*Artemia salina*) 为低温保藏的卤虫卵经海水孵化成的无节幼体,卤虫卵购自美国。

实验海水为管道海水(取自青岛太平角),经沙滤、沉淀,实验动物培养用海水经脱脂棉过滤,藻培养所用的海水先经 $0.45 \mu\text{m}$ 混合纤维滤膜过滤,再用高压灭菌锅灭菌 (121°C , 20min)。

1.2 实验方法

1.2.1 PSP 毒素分析——高效液相色谱(HPLC)法 分别取 50ml 塔玛亚历山大藻 (ATHK 和 AT-6)、链状亚历山大藻 ACDH 及微小亚历山大藻 AM-1 抽滤至滤膜 (Whatman GF/C) 上,置于 -20°C 冰箱中保存,留待 HPLC 分析毒素组成及含量。分析方法采用 Thielert 方法 (Thielert *et al.*, 1991),样品的毒素分析分为醋酸提取和盐酸水解两步。

分析过程采用的溶剂均为 HPLC 级,离子对试剂辛基磺酸钠为 Sigma 产品,标准毒素购自加拿大,其他的化学药品均为分析纯试剂。液相色谱用水是经 Millipore 超纯水过滤装置过滤的超纯水。

1.2.2 毒性效应实验 轮虫实验容器为 50ml 烧杯,30ml 实验液,实验前使轮虫处于饥饿状态 12h,用 $80 \mu\text{m}$ 筛绢浓缩并以实验藻液和海水稀释,使轮虫最终密度为 10 个/ml,实验过程中盐度保持在 31 ± 1 ,pH 值为 8.0 ± 0.18 ,不充气,每隔 24h 检查烧杯中的藻细胞密度,适量添加藻液使之维持在起始密度,以投喂小球藻 (1×10^4 cells/ml) 的实验组作为对照。

黑褐新糠虾与鲈鱼的毒性效应实验容器为 1L 烧杯,每杯 10 尾糠虾 [(5 ± 1) 日龄健康活泼的糠虾幼体] 或 8 尾鲈鱼 (2.5cm 左右的健康活泼的鲈鱼幼鱼),800ml 实验液,温度用恒温水浴控制在 $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$,盐度控制在 33 ± 1 ,不间断充气,每天投喂饵料(卤虫)及吸取杯底污物,48h 换一次处理液。以投喂足量卤虫的实验组作为对照(对照组生物死亡率低于 10%)。

各实验组中藻密度设计如表 1 所示。每组实验均设三个重复,实验进行 96h,观察并记录 24、48、72、96h 时的存活数及其他异常生理现象。

表 1 亚历山大藻对生物毒性效应各实验中的藻密度设计

Tab. 1 Algal density set in each experiment of the effects of *Alexandrium* on marine organisms

赤潮藻	轮虫	糠虾	鲈鱼
<i>A. tamarense</i> (ATHK)	0.1, 0.2, 0.3, 0.5	0.9, 4.5, 9	3.5, 4.5, 5.0, 6.5, 7.5
<i>A. catenella</i> (ACDH)	0.1, 0.5, 1, 2, 3	0.2, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 10	0.5, 1, 2, 2.5, 3, 4
<i>A. minutum</i> (AM-1)	0.2, 0.8, 1.5, 1.8	0.2, 0.9, 1.4, 1.7	0.2, 0.8, 1.4, 1.75
<i>A. tamarense</i> (AT-6)	2	10	10

注: *A. tamarense* (ATHK)、*A. catenella* (ACDH)、*A. tamarense* (AT-6) 的浓度为 $\times 10^3$ cells/ml, *A. minutum* (AM-1) 的浓度为 $\times 10^4$ cells/ml

1.2.3 塔玛亚历山大藻 ATHK 各组分对轮虫、糠虾和鲈鱼的毒性实验 取指数生长中期的塔玛亚历山大藻藻液 (culture) 用 $20\mu\text{m}$ 筛绢过滤, 得去藻过滤液 (cell-free medium) 和藻细胞 (cells), 藻细胞以超声波细胞粉碎机破碎后, 离心得藻细胞碎片 (cell fragments) 和内容物 (cell contents), 上述各组分以新鲜海水稀释到相当于藻细胞密度为 0.8×10^4 cells/ml 后用于实验。实验生物和实验方法与毒性效应实验相同。

1.3 数据处理

根据塔玛亚历山大藻 (ATHK 和 AT-6)、链状亚历山大藻 ACDH 和微小亚历山大藻 AM-1 以及标准毒素的高效液相色谱 (HPLC) 分析图谱, 分析这三株藻的毒素组成并计算各组分的含量。

毒性效应实验以 96h 时轮虫、糠虾和鲈鱼的存活率分别对四株藻的藻密度作图, 并进行回归分析, 根据回归曲线方程计算半致死密度, 即 $96\text{h}LC_{50}$ 。

以轮虫、糠虾和鲈鱼 96h 时的存活率分别对塔玛

亚历山大藻各组分作图, 比较不同组分的影响大小。

2 实验结果

2.1 四株亚历山大藻 PSP 毒素组成及其含量

四株亚历山大藻的 PSP 毒素组成及其含量分析结果如表 2 所示: 塔玛亚历山大藻 AT-6 藻株未检测到 PSP 毒素, 而塔玛亚历山大藻 ATHK、链状亚历山大藻 ACDH 和微小亚历山大藻 AM-1 均产生 PSP 毒素, 其总含量分别为 19.74、5.395、5.57 fmol/cell (2.60、0.36、1.61 pg STX eq/cell)。这三株藻的毒素组成也有很大差异, 塔玛亚历山大藻 ATHK 的毒素组成比链状亚历山大藻和微小亚历山大藻都要复杂。就各种组分的含量而言, 塔玛亚历山大藻 ATHK 中含有较多的 GTX1、4、5、6 和 C 毒素, 并且含有链状亚历山大藻和微小亚历山大藻所没有的 STX; 链状亚历山大藻主要含有 C 毒素, 同时含有少量的 GTX1、3、4; 而微小亚历山大藻主要含有 GTX1、2、3、4 及少量的 neo STX 毒素。

表 2 塔玛亚历山大藻 (ATHK 和 AT-6)、链状亚历山大藻 (ACDH) 和微小亚历山大藻 (AM-1) 毒素组成及含量 (fmol/cell 或 pg STX eq/cell)

Tab. 2 The toxin compositions and contents (fmol/cell or pg STX eq/cell) of *A. tamarense* (ATHK and AT-6), *A. catenella* (ACDH) and *A. minutum* (AM-1)

赤潮藻	<i>A. tamarense</i> (ATHK)	<i>A. catenella</i> (ACDH)	<i>A. minutum</i> (AM)	<i>A. tamarense</i> (AT-6)
C1	1.098	0.357		
C2	5.756	4.79		
C3		0.125		
GTX1,4	5.025	0.157	2.03	
GTX2	0.063		1.62	
GTX3	0.967	0.004	1.81	
GTX5	3.832			
GTX6	2.636			
neo STX	0.206		0.11	
STX	0.152			
PSP 总含量 (fmol/cell)	19.74	5.395	5.57	0
PSP 总含量 (pg STX eq/cell)	2.60	0.36	1.61	0

2.2 四株亚历山大藻对轮虫、黑褐新糠虾和鲈鱼的毒性效应比较

表 3 显示了轮虫、黑褐新糠虾和鲈鱼的 96h 存活率分别与四株亚历山大藻藻密度的相关关系和四株亚历山大藻对三种生物的 $96\text{h}LC_{50}$: 塔玛亚历山大藻 AT-6 对轮虫、黑褐新糠虾和鲈鱼这三种生

物均没有不利影响; 对于轮虫, 塔玛亚历山大藻 ATHK 和链状亚历山大藻 ACDH 的 $96\text{h}LC_{50}$ 分别为: 200 和 1200 cells/ml, 而微小亚历山大藻 AM-1 对它无不利影响; 对于糠虾, 塔玛亚历山大藻 ATHK、链状亚历山大藻 ACDH 和微小亚历山大藻 AM-1 的 $96\text{h}LC_{50}$ 分别为: 7000、11000、16000 cells/ml;

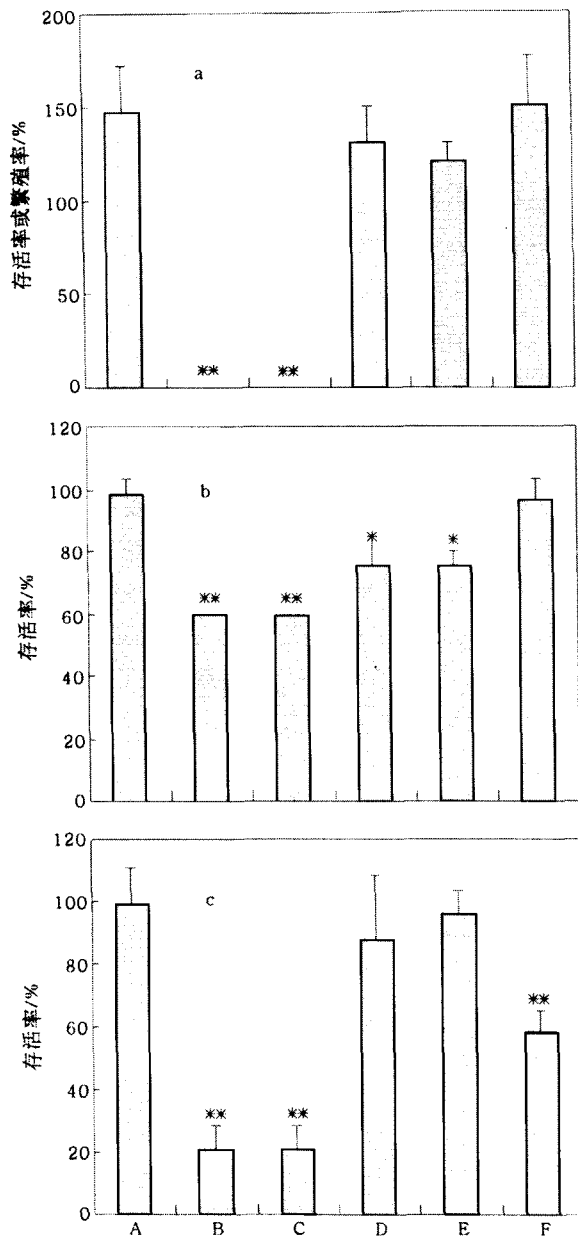


图1 96h时塔玛亚历山大藻 ATHK 各组分对轮虫、黑褐新糠虾和鲈鱼存活的影响

Fig.1 The effects of different fractions of *A. tamarense* (ATHK) on the survival of *B. plicatilis*,

N. awatschensis and *L. japonicus* within 96h exposure

a: 轮虫; b: 黑褐新糠虾; c: 鲈鱼。A: 对照; B: 藻液; C: 藻细胞重悬液; D: 去藻过滤液; E: 藻细胞碎片; F: 藻细胞内容物。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

对于鲈鱼,这三株藻的96h LC_{50} 分别为3700、4000、20000cells/ml。总的来说,三株产毒亚历山大藻对三种生物的毒性大小顺序为塔玛亚历山大藻 $ATHK >$ 链状亚历山大藻 $ACDH >$ 微小亚历山大藻 $AM-1$,这与2.1中三株藻PSP毒素总含

量的顺序不同,而且微小亚历山大藻 $AM-1$ 能产生PSP毒素,但轮虫能够利用它,并可以正常繁殖。因此,三株产毒藻对生物的毒性影响与它们的PSP毒素含量及其组成无直接的相关关系,可能还存在其他未知的毒性物质。

2.3 塔玛亚历山大藻不同组分的毒性效应研究

为进一步探讨亚历山大藻的致毒机制,作者在本研究中以塔玛亚历山大藻为例研究了该藻的不同组分分别对三种生物的影响,结果如图1所示:藻细胞(cells)重悬液和藻液(culture)对三种生物的不利影响最为显著,表明三株有毒亚历山大藻在藻细胞活性最大时毒性最强;去藻过滤液和细胞碎片对轮虫和鲈鱼没有明显影响,但糠虾的存活率有所下降;细胞内容物对轮虫和糠虾也无影响,但对鲈鱼的存活有一定影响。麻痹性贝毒毒素PSP主要存在于细胞内容物中,表明水溶性的PSP毒素不能导致轮虫和糠虾死亡,但鲈鱼的死亡可能与PSP毒素有关。以上结果表明,亚历山大藻对不同的生物可能存在不同的危害机制。

2.4 三种海洋生物对亚历山大藻的敏感性比较

图2显示,对于塔玛亚历山大藻 $ATHK$ 和链状亚历山大藻 $ACDH$,轮虫的反应最为敏感,然后依次是鲈鱼和糠虾;而对于微小亚历山大藻 $AM-1$,糠虾的反应最敏感,其次为鲈鱼,轮虫的存活几乎没有受到不利影响。由此可以看出,由于生物本身结构和生理机制的差异,它们对不同藻株毒性效应的敏感性不同。

3 讨论与结语

虽然藻类大量消耗水中氧气(Hallegraef, 1993)或堵塞鳃部(Matthews *et al.*, 1996)都可能导致生物死亡,但由于鲈鱼和糠虾实验中不间断充气,轮虫实验中虽然没有充气,但轮虫的存活率并没有受到高密度微小亚历山大藻 $AM-1$ 的影响,这表明实验条件不会造成实验生物缺氧;实验中高密度的微小亚历山大藻对生物造成的影响远小于低密度的塔玛亚历山大藻 $ATHK$ 和链状亚历山大藻 $ACDH$ 对生物的影响,可以排除本实验中藻对生物的毒害方式是通过对其鳃部的堵塞或机械性损伤。

同一株藻的不同组分对三种生物的影响不同表明该类藻对不同生物的危害机制存在差异。本研究中轮虫、糠虾和鲈鱼代表三类重要的海洋生物,它们的生理结构、代谢途径和摄食方式等不同,轮虫主要以单细胞藻类为食,直接摄入和接

表 3 96h 时轮虫、黑褐新糠虾和鲈鱼的存活率分别与亚历山大藻密度的
相关关系及各株亚历山大藻对三种生物的半致死密度(96hLC₅₀)

Tab. 3 The relationship between the survival rate of *B. plicatilis*, *N. awatschensis*, *L. japonicus* and the density of *A. tamarense*(ATHK, AT-6), *A. catenella*(ACDH), *A. minutum*(AM-1), and the half lethal concentration of four strains *Alexandrium* on three organisms within 96h exposure

赤潮藻	轮 虫		黑褐新糠虾		鲈 鱼	
	相关关系	96hLC ₅₀ (cells/ml)	相关关系	96hLC ₅₀ (cells/ml)	相关关系	96hLC ₅₀ (cells/ml)
<i>A. tamarense</i> (ATHK)	$y = -0.2491x + 103.47,$ $R^2 = 0.6973$	200	$y = -0.0056x + 90.255,$ $R^2 = 0.8755$	7000	$y = -0.0136x + 100.09,$ $R^2 = 0.8679$	3700
<i>A. catenella</i> (ACDH)	$y = -0.0392x + 94.834,$ $R^2 = 0.6693$	1200	$y = -0.004x + 96.177,$ $R^2 = 0.916$	11000	$y = -0.0173x + 113.13,$ $R^2 = 0.7594$	4000
<i>A. minutum</i> (AM-1)	$y = -4E-08x^2 + 0.0003x + 132.78,$ $R^2 = 0.5309$	≥20000	$y = -0.0036x + 108.58,$ $R^2 = 0.7849$	16000	$y = -0.0025x + 101.98,$ $R^2 = 0.8532$	20000
<i>A. tamarense</i> (AT-6)		≥2000		≥10000		≥10000

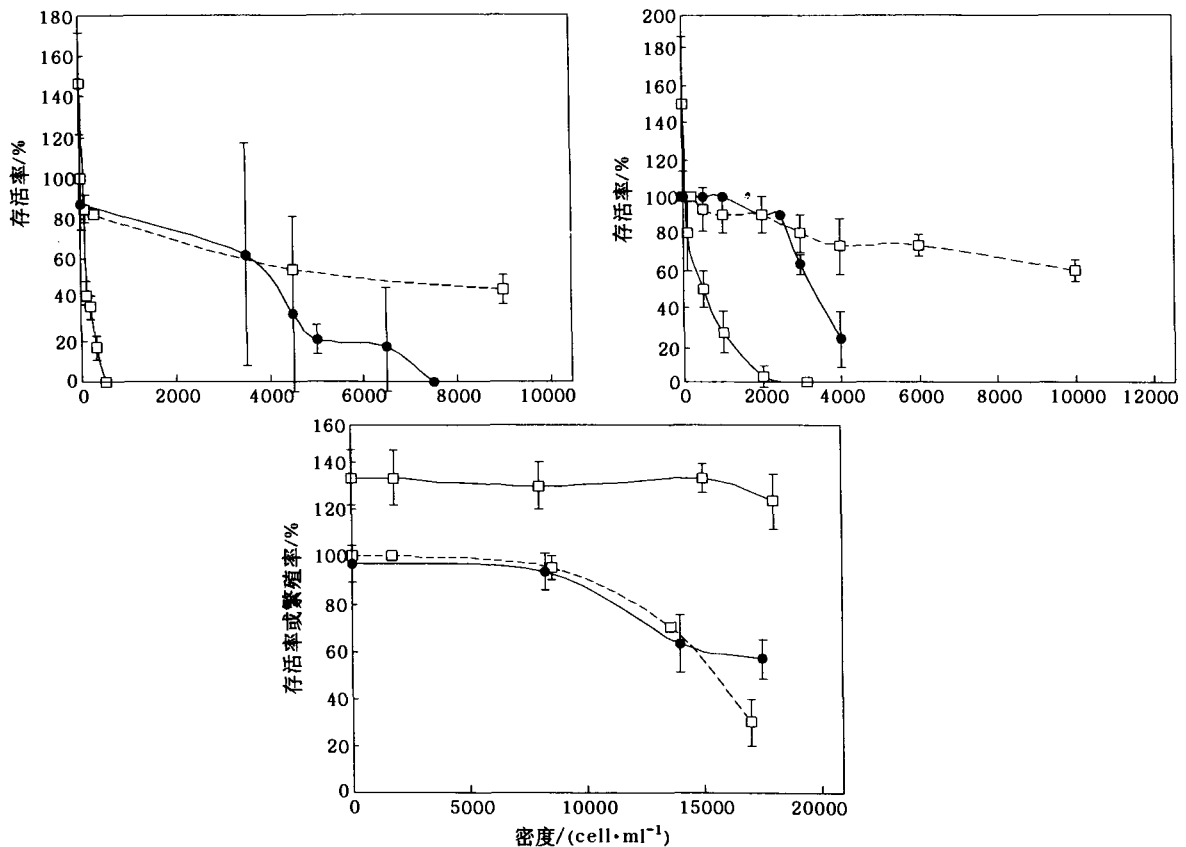


图 2 96h 时塔玛亚历山大藻 ATHK、链状亚历山大藻 ACDH 和微小亚历山大藻 AM-1 对轮虫、黑褐新糠虾和鲈鱼存活的影响

Fig. 2 The effects of *A. tamarense*(ATHK), *A. catenella*(ACDH) and *A. minutum*(AM-1) on the survival of *B. plicatilis*, *N. awatschensis* and *L. japonicus* within 96h exposure

上:塔玛亚历山大藻 ATHK;中:链状亚历山大藻 ACDH;下:微小亚历山大藻 AM-1。

—□— 轮虫; --□-- 黑褐新糠虾; —●— 鲈鱼

触大量藻细胞,亚历山大藻的毒性作用除了可能来自摄入的未知毒性物质,还可能通过碰撞活体藻细胞表面、促藻产毒而受害;糠虾和鲈鱼不摄食藻细胞,但可能在捕食或吞水过程中摄入少量藻细胞从而受到毒害影响。与糠虾相比,鲈鱼为较高等的脊椎动物,对含 PSP 毒素的细胞内容物的毒性更为敏感;糠虾则可能通过体表接触藻细胞或胞外毒性物质而受到危害。因此,建议在今后的赤潮危害评价过程中,尽量选取赤潮暴发海域的多种生物作为研究对象,使毒性监测结果更具有现实意义,更能反映有害赤潮可能对自然海洋生态系统造成的影响。

PSP 毒素各组分都具有相同的作用机理,它们是特异性钠离子通道阻断剂,能阻碍动作电位的形成,影响无脊椎动物的神经活动以及脊椎动物的骨骼肌和神经细胞的活动(White, 1980),本研究结果表明三种亚历山大藻除了产生 PSP 毒素,还产生了其他毒性物质,对三种生物单独或连同 PSP 毒素产生了毒性影响。在以往的研究中,Lush 等(1996)、Simonsen 等(1995)也曾提出亚历山大藻能产生一些不同于已知 PSP 毒素的新毒素。但藻细胞中 PSP 毒素的含量与未知毒性物质之间的关系,以及两者是否对生物产生联合或拮抗作用,还有待于深入研究。因此,要全面地评价亚历山大藻的危害效应,就不仅要从小 PSP 毒素的危害方面考虑,还应考虑亚历山大藻产生的未知毒性物质可能造成的影响。

本研究中四株藻同样属于亚历山大藻属,但其所产生的 PSP 毒素的种类组成及各毒素组分的含量存在很大差别,Anderson(1990)也曾报道亚历山大藻的不同种产生的 PSP 毒素组成及含量不同;同时,四株亚历山大藻对三种生物的毒性大小也不相同,未知毒性物质的种类和量也存在差异。另外,亚历山大藻的毒性还会受到其环境因子如温度、光照、盐度,特别是营养盐的调控,所以,同样是亚历山大藻赤潮,由于亚历山大藻毒性的差异,其对海洋生物和海洋生态环境的影响将有所不同,只有针对性地分别进行现场和实验室的毒性研究,才能对其可能产生的危害作出正确的判断。

综上所述,不同亚历山大藻的毒性大小存在差别,其对不同生物的危害机制也不相同,除 PSP 毒素外,亚历山大藻可能还产生其他的毒性物质。因此,应针对性地对亚历山大藻进行多种生

物的现场和实验室的毒性研究,并考虑除 PSP 毒素外其他未知毒性物质可能造成的毒性影响,这样才能对其造成的危害作出全面、准确的判断。

致谢 承蒙于仁成、李爱峰和张清春老师协助进行藻毒素分析,感谢唐祥海、姬伟等同学在毒性效应实验中的参与和帮助。

参 考 文 献

- 周名江,颜天,邹景忠,2003. 长江口邻近海域赤潮发生区基本特征初探. 应用生态学报,14(7):1031—1038
- Anderson D M, 1990. Toxin Variability in *Alexandrium* species. In: Granéli E, Sundstrom B, Edler I *et al* ed. Toxic Marine Phytoplankton. New York: Academic Press, 41—51
- Burkholder J M, 1998. Implications of harmful microalgae and heterotrophic dinoflagellates in management of sustainable marine fisheries. Ecol Applic, 8: S37—S62
- Hallegraeff G M, 1993. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. Phycology, 32: 79—99
- Landsberg J H, 2002. The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms. Reviews in Fisheries Science, 10(2): 113—390
- Lush G J, Hallegraeff G M, 1996. High Toxicity of the Red Tide Dinoflagellate *Alexandrium minutum* to the Brine Shrimp *Artemia salina*. In: Yasumoto T, Oshima Y, Fukuyo Y ed. Harmful and Toxic Algal Blooms. Paris: Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, 389—392
- Matthews S G, Grant C P, 1996. Worst Recorded Marine Mortality on the South African Coast. In: Harm and Toxic Algal Blooms. Japan, by the United Nations Educational, Scientific and Culture Organization, 89—92
- Ogata T, Kodama M, 1986. Ichthyotoxicity found in cultured media of *Protogonyaulax* spp. Marine Biology, 92: 31—34
- Simonsen S, Moller B L, Larsen J *et al*, 1995. Haemolytic Activity of *Alexandrium tamarense*. In: Lassus P, Arzul G, Erard D E ed. Harmful Marine Algal Blooms. Lavoisier, New York, 513—517
- Smayda T, 1990. Novel and nuisance phytoplankton blooms in the sea: evidence for a global epidemic. Toxic Marine Phytoplankton, 29—40
- Thielert G, Kaiser I, Luckas B, 1991. HPLC Determination of PSP toxins. In: Freymy J M ed. Proceedings of Symposium of Marine Biotoxins. Paris, January 1991, Editions CNEVA, B P 19, F-94701 Maisons Alfort Wintersteinger R. and Berlitz G. 1989. Elektronchemische Detektion in der

- HPLC-ein hochempfindliches Analysessystem. GIT Supplement, 3/89: 19—26
- Van Dolah F M, 2000. Marine algal toxins: origins, health effects, and their increased occurrence. Environmental Health Perspect, 108: 133—141
- White A W, 1980. Recurrence of kills of Atlantic herring (*Clupea harengus harengus*) caused by dinoflagellate toxins transferred through herbivorous zooplankton. Canada Journal of Fish Aquatic Science, 37: 2262—2265
- Yan T, Zhou M J, Fu M *et al*, 2001. Inhibition of egg hatching success and larvae survival of the Scallop, *Chlamys farreri*, associated with exposure to cells and cell fragments of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. Toxicon, 39 (8): 1239—1244

TOXICITY OF DINOFLAGELLATE *ALEXANDRIUM* SPECIES

CHEN Yang^{1,2}, YAN Tian¹, TAN Zhi-Jun^{1,2}, WANG Li-Ping^{1,2}, ZHOU Ming-Jiang¹

(1. Key Laboratory of Marine Ecology & Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071;

2. Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100039)

Abstract *Alexandrium* species are major HAB (harmful algal bloom) members. To investigate the toxicity and its mechanism of *Alexandrium* species, PSP toxin compositions, the contents of four *Alexandrium* strains: *A. tamarense* (ATHK, AT-6), *A. catenella* (ACDH) and *A. minutum* (AM-1), and their effects on rotifer *Brachionus plicatilis*, mysid *Neomysis awatschensis* and perch *Lateolabrax japonicus* were studied. The PSP toxin compositions and contents were analyzed using HPLC method. And the studies of effects were carried out through 96-hour acute toxicity assay. The results show that *A. tamarense* (AT-6) did not produce any PSP toxins, while all *A. tamarense* (ATHK), *A. catenella* (ACDH) and *A. minutum* (AM-1) produced PSP toxin, and the PSP content of them was 2.60, 0.36, 1.61 pg STX eq/cell, respectively. *A. tamarense* (AT-6) did not show any adverse impact on the three organisms, while for *B. plicatilis*, the 96hLC₅₀ of *A. tamarense* (ATHK) and *A. catenella* (ACDH) was 200 and 1200 cells/ml, respectively. But *B. plicatilis* was not affected by *A. minutum* (AM-1). For *N. awatschensis*, the 96hLC₅₀ of *A. tamarense* (ATHK), *A. catenella* (ACDH) and *A. minutum* (AM-1) was 7000, 11000, 16000 cells/ml, respectively. For *L. japonicus*, the 96hLC₅₀ of these three strains was 3700, 4000, 20000 cells/ml, respectively. The toxicities of these *Alexandrium* strains to the three organisms were not correlated to their PSP contents and compositions directly, indicating that other non-PSP toxic substances may have caused the toxicity. The toxicity of different fractions of *A. tamarense* ATHK culture to the three organisms was also compared and the results revealed that the culture and re-suspended algal cells showed strongest adverse effects on *B. plicatilis*, *N. awatschensis* and *L. japonicus*. Cell-free medium and cell fragments reduced the survival of the mysid, but had no adverse influence on the rotifer and the perch. The cell contents affected the survival of the perch, but had no deleterious effects on the rotifer and the mysid. The above results demonstrated that the toxicities and the harmful mechanisms of *Alexandrium* varied among species and strains, and the algae could produce other non-PSP toxic substances.

Key words *Alexandrium*, Paralytic shellfish poisoning (PSP), *Brachionus plicatilis*, *Neomysis awatschensis*, *Lateolabrax japonicus*