

盐度胁迫下中肋骨条藻和东海原甲藻的生长及内源多胺含量的变化*

朱晓文^{1,2} 赵卫红¹ 苗辉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. 中国科学院大学 北京 100049)

摘要 在实验室内不同盐度梯度下培养常见的两种赤潮藻——中肋骨条藻(*Skeletonema costatum* s.l.)和东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*), 根据 logistic 生长模型获得了终止生物量 B_f 和最大生长速率 μ_{max} , 并测定了藻体中过氧化物酶(POD)、二胺氧化酶(DAO)、多胺氧化酶(PAO)的活性和丙二醛(MDA)、腐胺(Put)、亚精胺(Spd)、精胺(Spm)的含量。结果表明, 高、低盐度胁迫下, 两种藻均会积累 MDA, 活性氧自由基的伤害增强, 藻的生长受到了抑制。同时, 两种藻都会提升多胺含量, 通过多胺的调节作用来缓解胁迫的伤害, 促进生长, 但是在提升的多胺种类和形态上, 两种藻存在着差异。高盐胁迫下, 中肋骨条藻会提升多胺尤其是游离态多胺的含量来缓解伤害, 东海原甲藻则依靠结合态的亚精胺和游离态的精胺的调节作用。低盐胁迫下, 中肋骨条藻会提升游离态腐胺的含量, 而东海原甲藻体内各形态的多胺都会上升。

关键词 赤潮藻; 盐度; 多胺

中图分类号 S968.4 **doi:** 10.11693/hyhz20140400112

多胺是一类含有两个以上氨基的脂肪族生物胺的小分子化合物, 广泛存在于真核和原核生物中。植物体内的多胺主要有: 腐胺(Put)、亚精胺(Spd)、精胺(Spm)、尸胺(Cad)及鲛精胺(Agm)等, 按其存在细胞内的存在形态可分为游离态(Free), 结合态(Conjugated)和束缚态(Bound)。作为一种普遍存在的代谢调节物, 多胺对于植物体的细胞增殖、形态构成、环境胁迫响应及延缓衰老等方面发挥着特殊的作用。现阶段, 多胺在植物体内参与生长调节和逆境响应的作用机制的研究已广泛存在于高等植物领域, 以实现提高农作物的综合逆境抗性的目的。研究成果显示, 多胺可以调节代谢和基因表达, 增强抗氧化酶活性, 消除活性氧自由基, 激活或抑制细胞膜上的各种离子通道活性等过程来保护细胞膜、蛋白质及核酸等生物大分子, 维持正常的生理活动, 提高植物的逆境抗性(Nayyar *et al*, 2004; 向玥如等, 2014)。然而多胺在微藻体内所起的抗逆作用, 目前报道的比较少。

中肋骨条藻(*Skeletonema costatum* s.l.)和东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)是我国东海海区发生赤潮的主要肇事种之一(周名江等, 2003)。已有观测数据表明, 在各种环境因素和赤潮生物生态学过程的作用下, 东海的赤潮高发区在特定季节呈现着以这两种优势种交互演替的硅藻和甲藻赤潮(周名江等, 2006)。赤潮的研究表明了环境条件在赤潮暴发优势种的筛选和演替中的重要作用, 而盐度是影响优势种形成的重要物理因子。此外, 在赤潮暴发期间, 伴随着浮游植物的大量繁殖, 海水中的多胺浓度会呈现升高的趋势(Nishibori *et al*, 2003; 李彩艳等, 2012); 有实验显示, 微藻体内游离态多胺与其生长周期具有一定的相关性, 在指数期内游离态的亚精胺与藻细胞的生长速率呈现良好的线性关系(Nishibori *et al*, 2004; 赵卫红等, 2014)。本研究依托盐度开展了胁迫实验, 以探究多胺在两种赤潮藻生长和应对不利盐度环境时的响应机制。

* 国家自然科学基金项目, 41276118 号。朱晓文, 硕士研究生, E-mail: zwx789563@163.com

通讯作者: 赵卫红, 研究员, E-mail: whzhao@qdio.ac.cn

收稿日期: 2014-04-13, 收修改稿日期: 2014-06-27

1 材料与方方法

1.1 材料准备和实验设计

取天然海水, 经 $\Phi 47\text{mm}$ GF/F(Whatman)滤膜过滤, 蒸发浓缩后再稀释来获得各个盐度的海水, 添加 $f/2$ 配方, 120°C 高压灭菌冷却。中肋骨条藻(*Skeletonema costatum* s.l.)和东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)由中国科学院海洋研究所藻种库提供, 盐度设 4 个水平, 每个水平设置 2 个平行样。中肋骨条藻是广盐型的近岸硅藻, 最适增殖盐度范围为 20—30(霍文毅等, 2001)。而东海原甲藻的最适盐度范围则为 28—35(潘光等, 2011)。本实验中中肋骨条藻的盐度为 14、17、20、36, 东海原甲藻为 16、21、30、36, 培养体积为 1L, 培养温度为 $(20\pm 1)^\circ\text{C}$, 光照强度为 $55\text{—}70\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 光暗比为 L : D=12 : 12, 每日随机调换锥形瓶并摇动 3 次, 结束后所剩藻液应不少于初始藻液的 2/3, 中肋骨条藻和东海原甲藻的初始接种密度分别约为 $1\times 10^8\text{cell/L}$ 和 $1\times 10^6\text{cell/L}$ 。

1.2 培养过程中取样

于接种后每隔 12h 进行取样, 取样时间为每日的开始时和结束后, 藻液摇匀后取 10mL 藻液, 用 TU-1810 紫外-可见分光光度进行测定藻细胞密度。中肋骨条藻和东海原甲藻分别在 440nm 和 465nm 下测定吸光度, 藻细胞浓度(N)根据吸光度值(A)换算得到。换算公式如下, 中肋骨条藻: $N=213.48A-6.0046$ ($10^7/\text{L}$), ($n=7$, $R^2=0.9938$); 东海原甲藻: $N=53.916A-3.7397$ ($10^7/\text{L}$), ($n=7$, $R^2=0.994$)。取培养至指数生长期后期的各实验组藻液, 用于测定 MDA, POD, DAO, PAO 和多胺。

1.3 测定方法

1.3.1 MDA 的测定 丙二醛(MDA)是膜脂过氧化的产物, 是衡量逆境下植物膜系统受损害程度的重要指标。产生活性氧是植物遭遇逆境胁迫的常见反应之一, 当植物体细胞内的有大量活性氧且无法得到及时清除时, 将引起 MDA 的生成和积累, 即标志着细胞膜和细胞器膜的结构和功能遭受到了损害, 会对植物的生长产生不利影响(Groppa *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 2010)。丙二醛(MDA)的测定采用硫代巴比妥酸法(宫相忠等, 2001)。MDA 含量以 $\mu\text{mol}/\text{细胞数量}$ 表示, 计算方法如公式(1)所示。

$$\text{MDA} \left(\frac{\mu\text{mol}}{10^{12}} = \frac{\text{OD}(532-600\text{nm})}{155} \times V_1 \times S / (A \times N_t \times V_2) \right) \quad (1)$$

式中, OD(532—600nm)/155 表示 $\Delta\mu\text{mol}/\text{mL}$ (MDA), V_1 表示反应体系总量(mL), V_2 表示藻液总量(mL), S 表示提取液总量(mL), A 表示测定时用提取液总量(mL), N_t 表示 t 时刻单胞藻密度(个/mL)。

1.3.2 POD 的测定 过氧化物酶(POD)是植物活性氧清除系统的重要组成部分, 它能够有效地清除细胞内过量的 H_2O_2 和其他氧自由基(Apel *et al.*, 2004)。取适量藻液, 3000r/min 离心 10min 收集藻细胞, 加入 1—1.5mL 0.02mol/L 的 KH_2PO_4 溶液, 冰浴下超声波破碎, 然后 $4000\times g$ 离心 20min。过氧化物酶(POD)的测定采用愈创木酚法(Maehly, 1955), 以每分钟吸光度变化 0.01 表示一个酶活性单位: U($0.01\Delta\text{OD} 470/\text{min}$), 如公式(2)所示。

$\text{POD}(\text{U}/\text{cell}) = (\Delta\text{OD}470 \times V_1) / (N \times V_s \times 0.01 \times t) \quad (2)$
式中, $\Delta\text{OD}470$ 表示反应时间内吸光度的变化, N 表示细胞数(个), V_1 表示提取酶液总体积(mL), V_s 表示测定时取用酶液体积(mL), t 表示反应时间(min)。

1.3.3 PAO 和 DAO 的测定 参考汪天等(2004)的测定方法并略有改动。DAO 测定中加入 0.1mL Put(20mmol/L)启动反应, 在 30°C 下反应 30min, 于 550nm 处测定反应后的光度值; PAO 测定中加入 0.1mL Spd+Spm(20mmol/L)启动反应, 在 25°C 下反应 30min, 于 550nm 处测定反应后的光度值。以 $0.001\Delta\text{OD}550/\text{min}$ 为一个酶活单位(U)表示 DAO 和 PAO 活性, 如公式(3)所示。

$\text{DAO or PAO}(\text{U}/\text{cell}) = (\Delta\text{OD}550 \times V_1) / (N \times V_s \times 0.001 \times t) \quad (3)$
式中, $\Delta\text{OD}550$ 表示反应时间内吸光度的变化, N 表示细胞数(个), V_1 表示提取酶液总体积(mL), V_s 表示测定时取用酶液体积(mL), t 表示反应时间(min)。

1.3.4 三种形态多胺的测定 多胺的测定方法参考于 Aziz 等(1995)并略有改动。取适量藻液, 3000r/min 离心 10min, 收集藻细胞, 加入 1mL 5%的 PCA, 超声下冰浴 20min, $18000\times g$ 离心 15min, 分离上清液, 剩余细胞碎片用 2%的 PCA 冲洗 2 次, 合并上清液, 此上清液中包含游离态多胺和结合态多胺。取 1mL 上清液进行游离态多胺的测定, 加入 $10\mu\text{L}$ 1,6-己二胺标液(10^{-5}mol/L), 4°C 冰箱避光反应 30min, 加入 $70\mu\text{L}$ 硼酸缓冲液和 $200\mu\text{L}$ 2mol/L 的氢氧化钠溶液调节 pH, 涡旋混匀, 再加入 2mL 的丹磺酰氯的丙酮($5\text{mg}/\text{mL}$)溶液, 涡旋混匀, 40°C 下水浴避光衍生 45min, 加入 25%的浓氨水 $100\mu\text{L}$ 中止反应, 涡旋混匀 30s, 避光静置 30min, 用乙醚分两次萃取, 合并萃取液, 氮气吹干, 加入 $400\mu\text{L}$ 乙腈溶解残留物, 最后

用 0.22 μm 有机针头微孔滤膜过滤, 进样分析。再取 2mL 上清液, 用等体积的 12mol/L 的 HCl 混合, 在 110 $^{\circ}\text{C}$ 水解 18 小时后, 70 $^{\circ}\text{C}$ 旋蒸干燥, 再用 1mL 2%PCA 萃取, 然后重复游离态多胺的处理方法, 用于测定结合态。用 2mL2% PCA 溶解剩余的细胞碎片, 得细胞悬液。此细胞悬液重复结合态多胺的处理方法, 用于测定束缚态多胺。

1.4 数据处理

实验采用 Logistic 生长模型来描述藻的生长情况。Logistic 生长模型如公式(4)所示:

$$B_t = \frac{B_f}{1 + \frac{B_f - B_0}{B_0} B^{-\frac{\mu_{\max}}{B_f}}} \quad (4)$$

式中, B_t 为 t 时刻生物量(cell/L), B_0 为起始生物量(cell/L), B_f 为终止生物量(cell/L), μ_{\max} 为最大生长速度[cell/(L·h)]。利用数据分析软件 Origin8.5 对两种藻的生长情况进行非线性拟合可得到 B_f 和 μ_{\max} 作为判定藻生长状态的主要指标。

2 结果与分析

2.1 不同盐度下两种藻的生长状况

两种藻的生长状况主要参考 μ_{\max} 的结果, 实验中相对于盐度最适范围内的实验组, μ_{\max} 减少超过 15% 的被设为胁迫组。从表 1 的结果可知, 对于中肋骨条藻, 盐度为 17 时生长状况最佳, 其终止生物量和最大生长速率均表现出了最大值, 与文献略有不同, 但是 S-20 组的 μ_{\max} 与 S-17 没有显著差异, 故可作为对照组; 盐度为 14 时, μ_{\max} 降低 15.9%, 表明其增殖已经受到了胁迫, 因而将 S-14 组视为低盐胁迫组。盐度为 36 时, B_f 与 S-14 相当, 但是 μ_{\max} 显著降低 32%, 表明该盐度条件下, 中肋骨条藻生长缓慢, 可视为受到了高盐度的胁迫作用。对于东海原甲藻, 盐度为 30 时, B_f 和 μ_{\max} 最高, 盐度为 21 和 36 时, μ_{\max} 降低了 36.4% 和 37.4%, 生长较缓慢, 分别可作为低盐胁迫组和高盐胁迫组。当盐度为 16 时, 东海原甲藻的生长极缓慢, 甚至无法采集藻细胞用于测定多胺, 因而认为该盐度环境下, 东海原甲藻无法生长。

表 1 不同盐度下中肋骨条藻、东海原甲藻的终止生物量 B_f ($\times 10^7$ cell/L)和最大生长速率 μ_{\max} ($\times 10^7$ cell/(L·h))
Tab.1 The final biomass B_f ($\times 10^7$ cell/L) and maximum growth rate μ_{\max} ($\times 10^7$ cell/(L·h)) of *S. costatum* s.l. and *P. donghaiense* under different salinities

藻种	实验号	盐度	B_f	$\pm B_f$	μ_{\max}	$\pm \mu_{\max}$	R^2
中肋骨条藻	S-14	14	89.31	3.909	0.33	0.026	0.966
	S-17	17	109.37	8.468	0.39	0.042	0.933
	S-20	20	99.43	3.848	0.39	0.029	0.972
	S-36	36	88.64	7.255	0.26	0.020	0.961
东海原甲藻	S-16	16	0.25	0.071	0.017	—	-0.5
	S-21	21	13.54	1.988	0.063	0.0053	0.963
	S-30	30	15.32	0.534	0.099	0.0085	0.981
	S-36	36	9.09	0.329	0.062	0.0076	0.962

2.2 不同盐度作用下两种藻体内 MDA 和 POD 的变化

对于中肋骨条藻(图 1a), S-20 组, MDA 含量和 POD 活性最低, 随着盐度的降低, MDA 含量和 POD 活性呈现逐渐升高的趋势。相对于 S-20 组, S-14 组 MDA 含量上升了 52.3%, POD 活性升高了 43.0%, S-36 组 MDA 含量上升了 84.9%, POD 活性升高了 65.2%。对于东海原甲藻(图 1-b), 相对于最适盐度范围内的 S-30 组, 低盐胁迫下的 S-21 组 MDA 含量上升了 422.2%, 高盐胁迫下的 S-36 组 MDA 含量上升了 666.4%, 而三个实验组的 POD 活性均过低而无法检测。结果表明, 在高盐和低盐的逆境胁迫下, 两种藻体内的 MDA 含量均会升高, 说明两种藻遭受活性氧的伤害均会提升。此外, POD 活性的变化表现出和

MDA 含量正相关的趋势。

2.3 不同盐度作用下两种藻体内 DAO 和 PAO 的变化

如图 2 所示, 两种藻体内 DAO 和 PAO 随盐度的变化趋势均表现出同步性。中肋骨条藻体内 DAO 和 PAO 随着环境盐度的升高表现为先升高后降低的趋势。相对于 S-20 组, 高盐胁迫的 S-36 组, DAO 与 PAO 的活性分别下降了 57.8%和 56.7%; 低盐胁迫的 S-14 组, DAO 与 PAO 的活性分别下降了 43.1%和 20.9%。东海原甲藻体内 DAO 随盐度的升高表现为先降低后升高, 而 PAO 则表现为下降的趋势。低盐胁迫的 S-21 组与 S-30 组相比, DAO、PAO 分别上升了 393.1%、115.3%; S-36 组相对于 S-30 的变化并不显著。

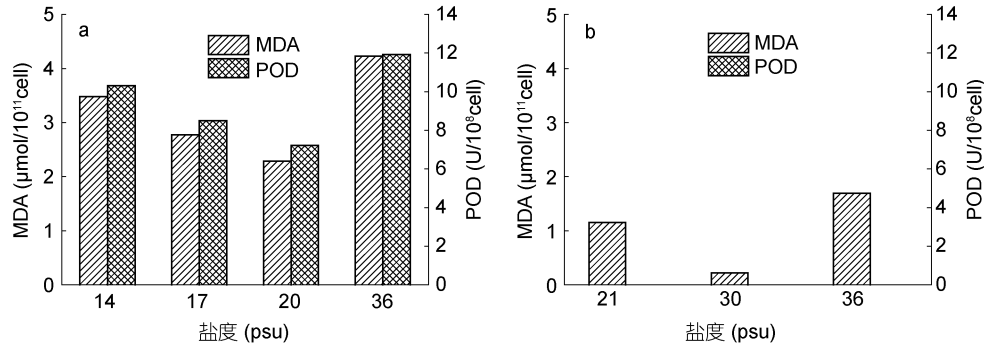


图 1 不同盐度条件下中肋骨条藻(a)和东海原甲藻(b)的MDA含量和POD活性

Fig.1 The MDA content and POD activity of *S. costatum s.l.*(a) and *P. donghaiense*(b) under different salinities

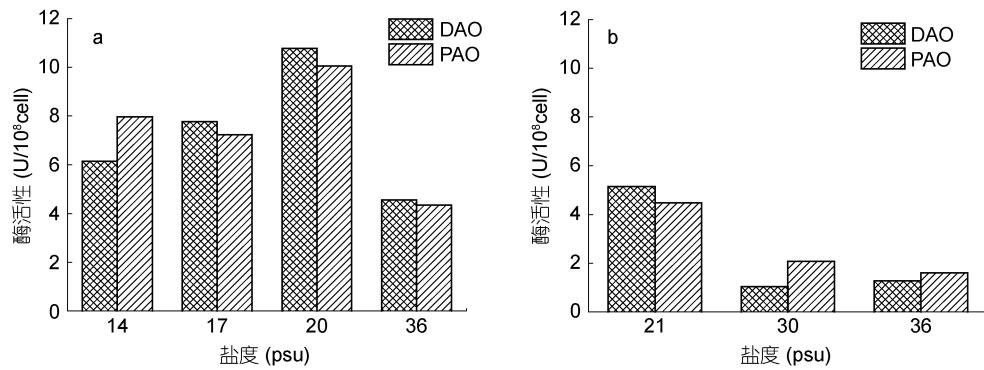


图 2 不同盐度条件下中肋骨条藻(a)和东海原甲藻(b)的DAO和PAO活性

Fig.2 The DAO and PAO activity of *S. costatum s.l.*(a) and *P. donghaiense*(b) under different salinities

2.4 不同盐度作用下两种藻体内多胺的变化

图 3 显示,随着盐度升高,中肋骨条藻体内总量的 Spd 和 Spm、游离态的 Spd 和 Spm 均呈现逐渐升高的趋势,结合态的 Spd、束缚态的 Spd 和 Spm 呈现出先上升后下降的趋势,游离态和束缚态的 Put、结合态的 Spm,则呈现出先降低后升高的趋势。同时,结合态的 Put 占总量的百分比呈现先升高后降低的趋势,游离态和束缚态 Put 的百分比变化趋势则相反;游离态的 Spd 占总量的百分比呈现先降低后升高的趋势,结合态和束缚态 Spd 的百分比变化趋势则又与之相反。S-36 组相对于 S-20 组,Put、Spd、Spm 总量分别升高 130.8%、2.24%、69.4%,游离态的 Put、Spd、Spm 分别升高 667.7%、173.5%和 462.0%,结合态的 Put、Spm 升高 17.1%、34.1%,束缚态的 Put 则升高 166.2%,而其他形态的多胺含量则出现了下降。同时,游离态多胺的百分数均呈升高之势,多胺的存在形态由结合态和束缚态在向游离态转变。作为低盐胁迫的 S-14 组,与 S-20 组相比,各种类和形态的多胺主要呈下降的趋势,Put、Spd、Spm 总量分别降低 26.3%、47.9%、37.7%,游离态的 Spd 降低 45.3%,结合态的 Put、Spd、Spm 分别降低 81.7%、54.2%、59.7%,而

游离态的 Put 则上升 201.4%,从折线图可以看出,这一变化表现出腐胺的存在形态由结合态向游离态转变。

如图 4 所示,随着培养盐度升高,东海原甲藻体内 Put、Spd、Spm 总量,游离态的 Put、Spd,结合态的 Spm、束缚态的 Put、Spd 均表现出了逐渐降低的趋势;其余的则表现为先降低后升高的趋势。相对于 S-30 组,作为高盐胁迫的 S-36 组,Put、Spd、Spm 总量分别降低了 19.1%、40.0%、19.6%,游离态的 Put、Spd 分别下降了 58.6%、88.4%,结合态的 Spm 下降了 76.7%,而游离态的 Spm、结合态的 Spd、束缚态的 Spm 则分别上升了 107.6%、44.8%、91.6%。同时,腐胺的存在形态会向结合态进行转变,亚精胺会由游离态向结合态转化,而精胺是由结合态向游离态和束缚态转化。作为低盐胁迫的 S-21 组,与 S-30 组相比,Put、Spd、Spm 总量分别升高了 88.9%、61.1%、57.0%,游离态的 Put、Spd、Spm 分别上升了 111.4%、62.9%、113.8%,结合态的 Put、Spd、Spm 分别上升了 158.3%、56.8%、38.2%,束缚态的 Put、Spd、Spm 分别上升了 14.8%、69.4%、85.2%,然而存在形态间的相互转化不明显。

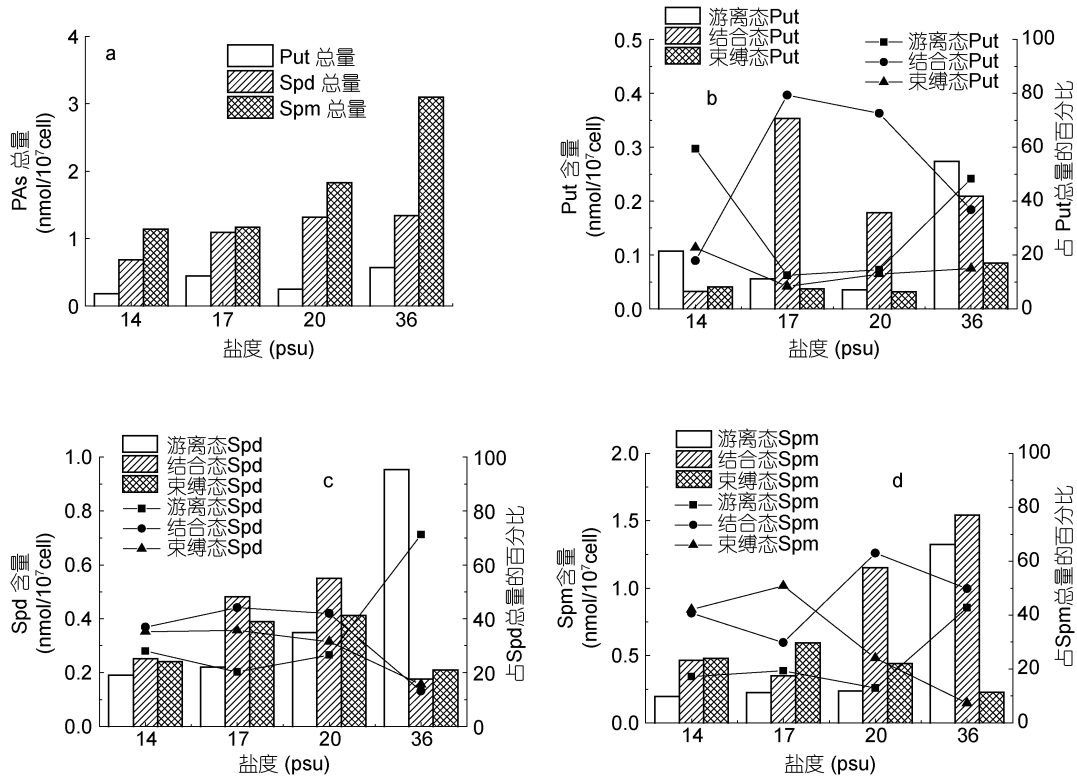


图3 不同盐度下中肋骨条藻体内的多胺总量(a)、腐胺(b)、亚精胺(c)、精胺(d)含量的柱状图和所占百分比的折线图
 Fig.3 The content of total PAs(a), column for content and line chart for percentage of Put(b), Spd(c), Spm(d) in total content from *S. costatum s.l.* under different salinities

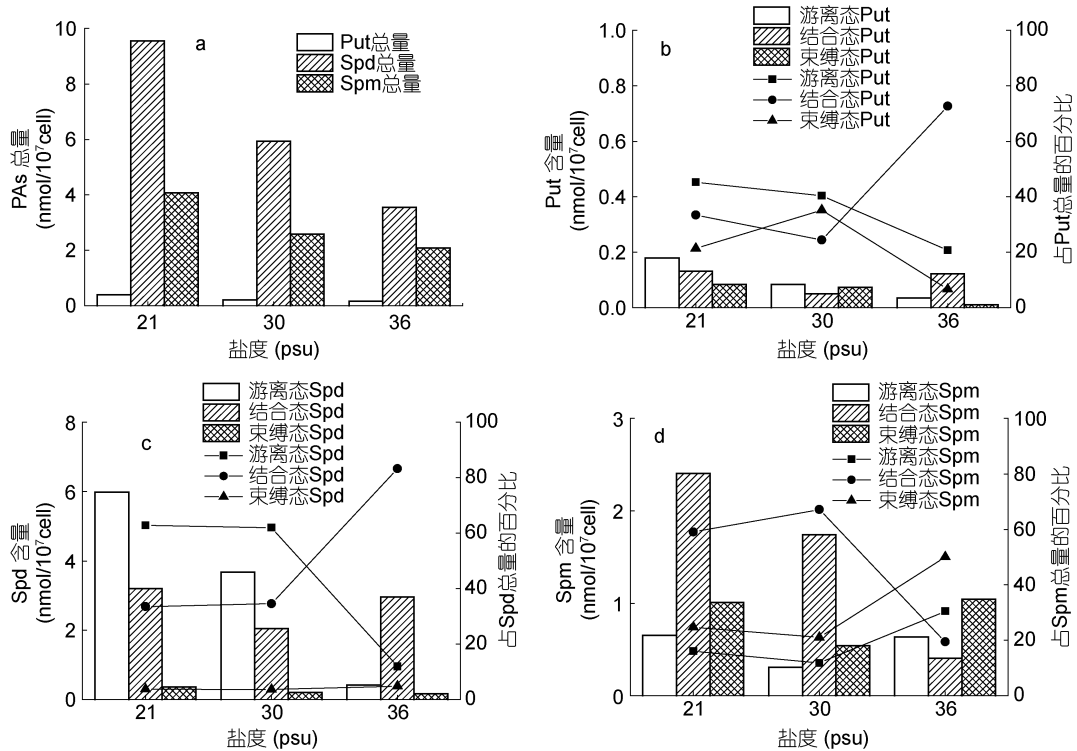


图4 不同盐度下东海原甲藻体内的多胺总量(a)、腐胺(b)、亚精胺(c)、精胺(d)含量的柱状图和所占百分比的折线图
 Fig.4 The content of total PAs(a), column for content and line chart for percentage of Put(b), Spd(c), Spm(d) in total content from *P. donghaiense* under different salinities

2.5 相关性分析

如图 5 所示, 在中肋骨条藻体内, DAO 和游离态的 Put 具有极显著的指数反相关($R^2=0.990$, $P=0.0025$), 而 PAO 则与游离态的 Spd、Spm 具有显著的指数反相关($R^2_{\text{Spd}}=0.7998$, $P=0.04$; $R^2_{\text{Spm}}=0.9659$, $P=0.011$)。两种氧化酶与结合态和束缚态多胺则没

有显著的相关性。POD 同多胺的关系则比较复杂(图 5c), POD 与游离态和束缚态的 Put 均有显著的幂正相关($R^2_{\text{free}}=0.986$, $P=0.0037$; $R^2_{\text{bound}}=0.801$, $P=0.020$), 而与结合态和束缚态的 Spd 均呈极显著的幂反相关($R^2_{\text{conjugated}}=0.928$, $P=0.007$; $R^2_{\text{bound}}=0.891$, $P=0.005$)。

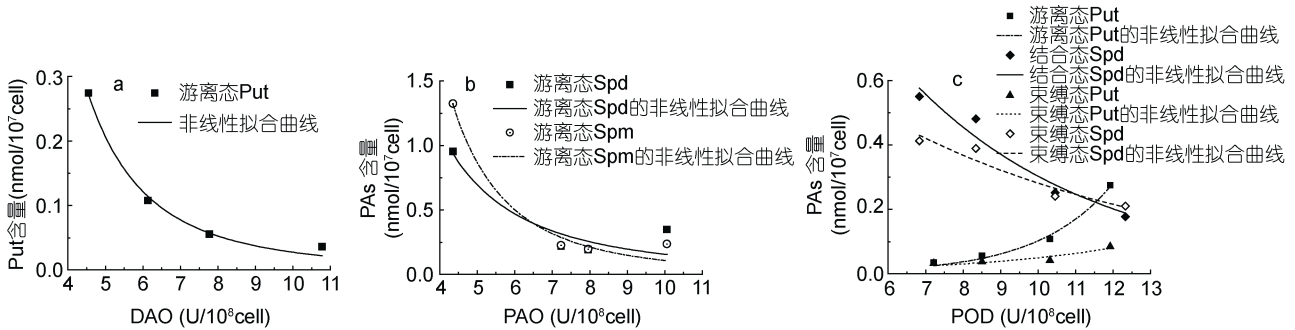


图 5 不同盐度下中肋骨条藻内二胺氧化酶(a)、多胺氧化酶(b)、POD(c)和多胺的相关性

Fig.5 The non-linear curve fit between DAO and PAs(a), PAO and PAs(b), POD activity and PAs(c) of *S. costatum s.l.* under different salinities

3 讨论

当处于盐度胁迫时, 两种藻的生长都受到抑制, 藻体内的丙二醛含量都有升高, 表明在高盐和低盐环境中, 两种藻细胞内的活性氧已经产生积累, 并对膜系统造成了危害, 导致了丙二醛的逐渐积累, 这可能是胁迫组的两种藻生长状况不佳的原因之一。而具有抗逆性的植物体内, 活性氧的含量和抗氧化酶的活性应该是处于动态均衡的, 测得的过氧化物酶活性的变化趋势也是与丙二醛的变化相符的, 两者具有同步性。此外, 过氧化物酶的活性被发现同多胺也具有一定的相关性, 但是其与腐胺和亚精胺的相互作用机理仍有待进一步研究。林定波等(1994)和周玉萍等(2003)在果树的低温胁迫中发现, 施加外源亚精胺可增强过氧化物酶的活性; Sarvajeet 等(2010)认为腐胺可以提高抗氧化酶的活性和抗氧化剂的含量, 同时降低活性氧自由基的生成, 从而加强植物种子对高盐度的耐受性。本实验中, POD 与游离态和束缚态的 Put 呈显著的正相关, 同结合态和束缚态的 Spd 却呈极显著的反相关。由此推测, 藻体内的腐胺对于过氧化物酶的提高起促进作用, 而结合态和束缚态的亚精胺的作用则有待于进一步的研究。二胺氧化酶作用于腐胺, 而多胺氧化酶作用于亚精胺和精胺, 它们是降解多胺的主要酶。本实验中, 二胺和多胺氧化酶的活性分别同游离态的 Put、Spd 和 Spm 表现为显著的反相关, 因此在藻体中二胺和多胺氧化酶对游

离态多胺的含量产生了直接的调控作用。

中肋骨条藻在高盐胁迫下, 体内二胺和多胺氧化酶活性下降, 多胺的总量和游离态的多胺含量会显著上升, 多胺的存在形态会由束缚态和结合态向游离态进行转变。多胺含量的增长与植物抗逆性的提高是一致的, 多胺既能够通过歧化反应直接清除活性氧(Azizet al, 1995), 又可以通过提高抗氧化酶的活性来间接增强植物活性氧清除系统的能力(Drolet et al, 1986)。此外, 多胺作为聚阳离子, 可与核酸、蛋白质结合, 稳定其结构和功能, 还可以与生物膜上的带负电的基团结合, 进而影响膜的流动性和膜结合酶的活性来提升植物体的抗逆境能力(Lomozik et al, 2005)。Liu 等(2000)的研究表明, 逆境胁迫时, 多胺含量的上升会作为“化学信使”调节细胞质膜向内的 K^+ 通道大小和气孔的运动, 控制水分的丢失。因此, 藻体内多胺含量的增高可以通过上述调节机制来缓解高盐对中肋骨条藻的伤害, 而游离态多胺的积累可能是用于平衡细胞内外的渗透压, 以抵御高盐环境下的渗透压胁迫。此外, Put 总量的增幅(130.8%)远远高于 Spd(2.24%)和 Spm(69.4%), 而 POD 又同游离态和束缚态的 Put 呈显著的正相关, 这表明中肋骨条藻中腐胺对抗高盐胁迫起着重要作用。东海原甲藻在高盐胁迫下, 二胺氧化酶活性升高, 多胺氧化酶活性减弱, 游离态 Put、Spd 含量下降, 游离态 Spm 含量显著增高, 但是三种多胺总量呈下降趋势, 而结合态的 Spd、束缚态的 Spm 也有所升高, 藻体内 Put 和

Spd 向结合态转化, Spm 的存在形态由结合态向游离态转化, 这与中肋骨条藻的表现差别很大。Roy 等(2002)对转基因水稻的研究表明亚精胺和精胺含量与水稻的高盐胁迫密切相关, 耐盐的水稻在应对胁迫时亚精胺和精胺会增加 3—4 倍。徐胜利等(2006)发现, 多胺可以清除自由基, 而且亚精胺与精胺的作用大于腐胺。因此, 中肋骨条藻体内 Spd 和 Spm 的增长对于其在逆境下的生长有重要意义; 而东海原甲藻体内结合态的 Spd 和游离态的 Spm 含量的升高可能是其应对高盐胁迫的响应机制。对比高盐胁迫下两种藻的实验结果可以发现, 盐度变动 16 个单位时, 中肋骨条藻的最大生长速率被抑制了 32%, 丙二醛含量上升了 84.9%, 而东海原甲藻在盐度仅升高 6 个单位时, 最大生长速率被抑制了 37.4%, 丙二醛的含量升高了 666.4%。同时高盐胁迫下东海原甲藻体内多胺主要呈下降趋势, 而游离态 Spm 的增长幅度显著低于中肋骨条藻, 这可能是东海原甲藻应对高盐胁迫的多胺调节能力要弱于广盐型的中肋骨条藻所致。现阶段对于低盐伤害的机理仍缺乏研究。本实验中, 中肋骨条藻在低盐胁迫下表现为游离态 Put 显著增高, 而东海原甲藻体内各种存在形态的多胺均呈现出升高的趋势, Put 的增幅最大, 因此, 两种藻在应对低盐胁迫时可能存在着相同的调节机制, 即通过提升游离态的腐胺来增强过氧化物酶的活性, 以应对丙二醛的积累, 从而有利于藻的生长。分析表明, 遭受高、低盐胁迫时, 两种藻都会提升多胺含量, 通过多胺的调节作用来缓解胁迫的伤害, 促进生长; 但是在提升的多胺种类和形态上, 两种藻有很多差异。

参 考 文 献

- 向玥如, 史端甫, 冯怀章等, 2014. 多胺参与植物逆境响应过程的作用机理研究进展. 湖南农业科学, 1(1): 19—22
- 李彩艳, 赵卫红, 苗 辉, 2012. 2010 年东海夏季游离态 2-苯基乙胺、腐胺、亚精胺和精胺的分布. 海洋科学, 36(4): 68—74
- 汪 天, 郭世荣, 刘 俊等, 2004. 多胺氧化酶检测方法的改进及其在低氧水培黄瓜根系中的应用. 植物生理学通讯, 40(3): 358—360
- 林定波, 刘祖祺, 张石城, 1994. 多胺对柑桔抗寒力的效应. 园艺学报, 21(3): 222—226
- 周玉萍, 王正询, 田长思, 2003. 多胺与香蕉抗寒性的关系的研究. 广西植物, 23(4): 252—256
- 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
- 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
- 赵卫红, 王 军, 李彩艳等, 2014. 中肋骨条藻体内及培养液中的游离态多胺. 济南大学学报(自然科学版), 28(3): 165—169
- 宫相忠, 唐学玺, 黄 健等, 2001. 球等鞭金藻 8701 的耐低温机理. 水产学报, 25: 20—25
- 徐胜利, 陈青云, 陈小青等, 2006. 盐胁迫下嫁接伽师甜瓜植株生长与多胺以及多胺氧化酶活性的关系. 果树学报, 23(2): 260—265
- 潘 光, 由希华, 谷树茂等, 2011. 光照、温度和盐度对东海原甲藻生长的影响. 中国环境科学学会学术年会论文集(2011): 420—424
- 霍文毅, 俞志明, 邹景忠等, 2001. 胶州湾中肋骨条藻赤潮与环境因子的关系. 海洋与湖沼, 32(3): 312—317
- Apel K, Hirt H, 2004. Reactive oxygen species: metabolism oxidative stress, and signaling transduction. Annual Review of Plant Biology, 55(1): 373—399
- Aziz A, Larher F, 1995. Changes in Polyamine titers associated with the Proline response and osmotic adjustment of rape leaf discs submitted to osmotic stress. Plant Science, 112: 175—186
- Drolet G, Dumbroff E B, Legge R L *et al*, 1986. Radical scavenging properties of polyamines. Phytochemistry, 25(2): 367—371
- Groppa M D, Tomaro M L, Benavides M P, 2001. Polyamines as protectors against cadmium or copper- induced oxidative damage in sunflower leaf discs. Plant Science, 161: 481—488
- Liu K, Fu H H, Bei Q X *et al*, 2000. Inward potassium channel in guard cells as a target for polyamine regulation of stomatal movements. Plant Physiol, 124(3): 1315—1326
- Lomozik L, Gasowska A, Bregier-Jarzebowska R *et al*, 2005. Coordination chemistry of Polyamines and their interactions in ternary systems including metal ions, nucleosides and nucleotides. Coordination Chemistry Reviews, 249(21—22): 2335—2350
- Maehly A C, 1955. Plant peroxidase. Methods in Enzymology, 2: 801—813
- Nayyar H, Chander S, 2004. Protective effects of polyamines against oxidative stress induced by water and cold stress in chickpea. Agronomy & Crop Science, 190(5): 355—365
- Nishibori N, Matuyama Y, Uchida T *et al*, 2003. Spatial and temporal variations in free polyamine distributions in Uranouchi Inlet, Japan. Marine Chemistry, 82(3—4): 307—314
- Nishibori N, Nishijima T, 2004. Changes in polyamine levels during growth of a red-tide causing phytoplankton *Chattonella antiqua*(Raphidophyceae). European Journal of Phycology, 39(1): 51—55
- Sarvajeet S G, Narendra T, 2010. Polyamines and abiotic stress tolerance in plants. Plant Signaling & Behavior, 5(1): 26—33
- Roy M, Wu R, 2002. Overexpression of S-adenosylmethionine decarboxylase gene in rice increases polyamine level and enhances sodium chloride-stress tolerance. Plant Science, 163(5): 987—992
- Yang H Y, Shi G X, Wang H Y *et al*, 2010. Involvement of Polyamines in adaptation of *Potamogeton crispus* L. to cadmium stress. Aquatic Toxicology, 100(3): 282—288

RELATIONSHIP BETWEEN GROWTH AND VARIATION OF ENDOGENOUS POLYAMINE CONTENT UNDER SALINITY STRESS IN *SKELETONEMA COSTATUM S. L.* AND *PROROCENTRUM DONGHAIENSE*

ZHU Xiao-Wen^{1,2}, ZHAO Wei-Hong¹, MIAO Hui¹

(1. Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Science Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract We carried out a laboratorial cultivation experiment on two common HAB algae (*Skeletonema costatum s.l.* and *Prorocentrum donghaiense*) under different salinities to determine the activities of POD (peroxidase), DAO(diamine oxidase), and PAO(polyamine oxidase), and the contents of MDA(malondialdehyde), Put(putrescine), Spd(spermidine), and Spm(spermine) extracted from algae cells. The final biomass and maximum growth rate of the HAB algae were obtained in logistic growth model. The results show that the both algae can accumulate MDA under high or low salinity stress, indicating that damage by free radical of active oxygen increased and the algae growth were inhibited. Meanwhile, the two algae increased the polyamine content to relieve stress and promote growth. However, the type and form of polyamine were different. Under a high salinity stress, *S. costatum s.l.* can enhance the polyamine especially the content of free polyamine, while *P. donghaiense* relies mainly on the regulation of bound spermidine and free spermine. Under a low salinity stress, *S. costatum s.l.* would enhance the free putrescine, while in *P. donghaiense*, contents of all forms of polyamine would rise.

Key words HAB algae; salinity; polyamine