

生物胺对赤潮藻生长的影响作用初探*

梁丛丛^{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 选取东海赤潮高发区常见的两种甲藻[东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)、塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarense*)]和两种硅藻[中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)、海链藻(*Thalassiosira* sp.)], 以 2-苯基乙胺、腐胺、亚精胺、精胺四种赤潮水体中常见的生物胺为因素, 设置 0、5、25、100nmol/L 四个浓度水平, 进行 $L_{16}(4^5)$ 正交添加培养实验。根据 Logistic 生长模型进行曲线拟合, 分析得到的生长参数。结果显示, 不同的生物胺对各赤潮藻生长影响的大小、趋势均存在差异。其中, 2-苯基乙胺对四种赤潮藻的生长影响最显著。高浓度的 2-苯基乙胺对中肋骨条藻的生长具有明显的抑制作用, 对塔玛亚历山大藻的生长具有明显的促进作用。多胺物质(腐胺、亚精胺和精胺)对甲藻(东海原甲藻和塔玛亚历山大藻)生长的促进作用大于硅藻(海链藻和中肋骨条藻)。多胺中的亚精胺对塔玛亚历山大藻和海链藻的生长影响最大, 精胺对东海原甲藻和中肋骨条藻的生长影响最大。多胺可能是 2010 年东海赤潮由中肋骨条藻向东海原甲藻演替的一个诱导因素, 其中精胺可能发挥的作用较大。

关键词 生物胺; 赤潮藻; 正交实验

中图分类号 P734.5

赤潮是一种世界范围的生态灾害, 严重威胁着渔业、公众健康及经济发展(Christopher *et al*, 2012)。由于赤潮的多样性、复杂性, 人们对其形成机理需进一步研究(周名江等, 2006)。东海是赤潮高发区, 且在历年的观测中发现一种演替机制: 4 月暴发以中肋骨条藻为主的硅藻赤潮, 4 月末、5 月初演替为以东海原甲藻为主的甲藻赤潮, 而到 6 月中旬以后又转变为硅藻赤潮(王宗灵等, 2006)。虽然对诸如此类的赤潮现象已有大量研究, 但至今未有一个令人满意的解释。

生物胺是一类含氮小分子化合物的总称, 通过氨基酸的脱羧作用以及生物合成, 酶促反应生成(Zeev, 2011)。根据结构可把生物胺分成 3 类, 即: 脂肪族(如腐胺、尸胺、亚精胺、精胺), 芳香族(如酪胺、2-苯基乙胺)和杂环族(如组胺、色胺)(李志军等, 2004)。其中, 含有两个以上氨基的脂肪族生物胺又称

多胺。已检测到, 在赤潮暴发期间, 海水中的 2-苯基乙胺和常见的多胺物质会大量增加(李彩艳等, 2012; Nishibori *et al*, 2004)。2-苯基乙胺作为多种生物活性物质的前体物, 已在各种脊椎和无脊椎动物及植物、奶酪、红酒中普遍发现和检测(Broadley, 2010)。对其生理作用的探讨集中于高等动物, 主要是将其看作一种神经传递和调节物质(Gueven *et al*, 2010)。多胺在细胞生物和自生微生物中广泛存在(Fuell *et al*, 2010)。作为一种痕量生物活性物质, 对于细胞的分裂分化, 生物体的生长、衰老及提高植物抗逆性方面均具有作用(Handa *et al*, 2010; Mohapatra *et al*, 2010; 袁祖丽等, 2008)。有研究显示, 海水中的多胺可以刺激一些赤潮藻的生长(Nishibori *et al*, 2001, 2003, 2004, 2006)。简言之, 生物胺是活细胞的必要组分, 并在细胞增殖分化中发挥重要作用。因此推断, 生物胺可能

* 国家自然科学基金项目, 40976047 号。梁丛丛, 硕士研究生, E-mail: eefecb@163.com

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

收稿日期: 2012-07-06, 收修改稿日期: 2012-10-29

是诱导赤潮暴发和演替的关键因子。

1 材料与方法

1.1 材料来源与处理

培养用海水为人工海水, 经 $\Phi 47\text{mm}$ GF/F(Whatman)滤膜过滤, 添加 *f/10* 配方, 120°C 高压灭菌 30min 后冷却备用。研究选取的东海原甲藻 (*Prorocentrum donghaiense*)、塔玛亚历山大藻 (*Alexandrium tamarense*)、海链藻 (*Thalassiosira* sp.) 和中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*) 由中国科学院海洋研究所藻种库提供, 藻种预先于 *f/2* 人工海水培养液中驯化。培养温度为 $(20\pm 1)^\circ\text{C}$, 光照强度为 4000—5000 lx, 光暗比为 L D = 12 12。

1.2 实验设计

根据东海赤潮高发区海水中生物胺的种类及浓度 (李彩艳等, 2012), 设计正交实验因素水平表 (表 1)。实验共设 16 个组合, 每个组合设两个平行样, 采用一次性培养。培养容器为 500mL 三角烧瓶。装入 300mL 培养基后, 添加不同浓度组合的四种生物胺 (2-苯基乙胺、腐胺、亚精胺及精胺), 将处于对数生长期的驯化藻种混匀后接入, 保证相同的初始细胞密度。每隔 1—2d, 于固定时间取样, 用 721E 型分光光度计在 464nm 波长下测定各培养液的吸光值。

表 1 正交实验因素水平表
Tab.1 Factors and levels of orthogonal tests

水平	因素			
	2-苯基乙胺 (Pea)	腐胺 (Put)	亚精胺 (Spd)	精胺 (Spm)
1	0	0	0	0
2	5	5	5	5
3	25	25	25	25
4	100	100	100	100

注: 浓度单位为 nmol/L

1.3 数据处理

四种藻的细胞密度 (N) 与吸光值 (A) 之间均表现出良好的线性关系 ($R^2 > 0.99$)。根据吸光度换算出细胞密度 (表 2)。

表 2 细胞密度 (N) 与吸光值 (A) 的线性关系
Tab.2 The linear relation between cell density (N) and absorbance (A)

藻种类	公式	R^2	n
东海原甲藻	$N = 57.714A - 0.4308 (10^7/L)$	0.9987	7
塔玛亚历山大藻	$N = 36.923A - 0.2783 (10^6/L)$	0.9994	7
中肋骨条藻	$N = 63.474A + 0.6390 (10^7/L)$	0.9991	7
海链藻	$N = 77.554A - 0.7513 (10^7/L)$	0.9999	7

Logistic 生长模型适用于描述早期缓慢生长期的生长过程 (Wang *et al.*, 2004), 因此本文选择该生长模型描述海洋赤潮藻前期的生长状况。Logistic 方程如下:

$$B_t = \frac{B_f}{1 + \frac{B_f - B_0}{B_0} e^{-\frac{4\mu_{\max}t}{B_f}}}$$

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} 为最大生长速率 [cell/(L·d)]。根据 Logistic 生长模型, 利用 origin7.0 软件, 对这四种赤潮藻的生长曲线进行非线性拟合, 拟合相关系数 R^2 基本在 0.98 以上, 拟合结果较好。将拟合得到的生长参数 B_f 和 μ_{\max} 代入 SPSS13.0 软件中进行极差分析和方差分析。本研究培养采用的是营养盐缺乏的 *f/10* 配方培养基, B_f 受 μ_{\max} 数值大小及到达时间早晚的共同影响, 与 μ_{\max} 数值大小的规律并不完全一致。由于自然界的赤潮形成存在竞争机制, 生长速率的大小决定其能否抢占资源, 发展成为优势种, 并最终决定赤潮的类型。因此, 本研究中将最大生长速率 μ_{\max} 作为判定赤潮藻生长状况的主要指标, 辅以终止生物量 B_f 进行分析。

2 结果与分析

2.1 四种生物胺对东海原甲藻生长的影响

根据 Logistic 生长模型, 对东海原甲藻进行生长拟合。拟合得到东海原甲藻的生长参数 B_f 和 μ_{\max} (表 3)。通过参数 μ_{\max} 可以看出, 与未添加生物胺的 1 号实验组相比, 生物胺对东海原甲藻生长的综合效应以促进为主 (只有 8 号实验组表现出了较明显的抑制作用)。同时, 终止生物量 B_f 多会有不同程度的降低。从未添加 2-苯基乙胺的 1—4 号实验组可以看出, 多胺能够促进东海原甲藻的生长。添加 2-苯基乙胺后, 总体也是以促进作用为主。

对以上的正交实验结果进行极差分析, 结果列于表 4。比较极差 R 的大小可得, 四种生物胺对东海原甲藻生长影响的大小顺序为: 对 B_f 的影响顺序是

表 3 不同生物胺添加条件下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·d)]Tab.3 The final biomass B_f ($\times 10^7$ cell/L) and maximum growth rate μ_{\max} [$\times 10^7$ cell/(L·d)] of *P. donghaiense* under different biogenic amine type and concentration

实验号	因素水平				结果				
	Pea	Put	Spd	Spm	B_f	$\pm B_f$	μ_{\max}	$\pm \mu_{\max}$	R^2
1	1	1	1	1	20.13	0.01	3.18	0.01	0.992
2	1	2	2	2	18.97	0.78	3.24	0.07	0.991
3	1	3	3	3	20.06	0.35	3.33	0.03	0.992
4	1	4	4	4	19.71	0.61	3.41	0.11	0.990
5	2	1	2	3	20.12	1.49	3.28	0.12	0.993
6	2	2	1	4	19.55	0.04	3.26	0.02	0.993
7	2	3	4	1	19.21	0.35	3.30	0.03	0.993
8	2	4	3	2	17.95	0.73	3.04	0.13	0.993
9	3	1	3	4	20.87	0.21	3.48	0.01	0.993
10	3	2	4	3	22.43	0.25	3.38	0.07	0.994
11	3	3	1	2	19.38	1.72	3.21	0.30	0.995
12	3	4	2	1	19.15	0.96	3.26	0.14	0.994
13	4	1	4	2	18.24	0.08	3.19	0.04	0.990
14	4	2	3	1	18.41	0.28	3.16	0.05	0.994
15	4	3	2	4	17.98	0.18	3.16	0.01	0.990
16	4	4	1	3	18.05	0.31	3.12	0.09	0.988

表 4 东海原甲藻正交实验的极差分析

Tab.4 The orthogonal experimental range analysis of *P. donghaiense*

项目		生长参数							
		B_f ($\times 10^7$ cell/L)				μ_{\max} [$\times 10^7$ cell/(L·d)]			
		Pea**	Put	Spd	Spm*	Pea	Put	Spd	Spm
各因素水	X_1	19.717	19.839	19.279	19.225	3.291	3.28	3.193	3.225
平平均	X_2	19.210	19.840	19.053	18.635	3.220	3.262	3.235	3.169
	X_3	20.458	19.159	19.322	20.167	3.333	3.250	3.252	3.278
	X_4	18.166	18.714	19.898	19.525	3.156	3.207	3.320	3.328
极差	R	2.292	1.126	0.845	1.532	0.177	0.073	0.127	0.159

注: *表示影响有显著差异($P < 0.05$), **表示影响有极显著差异($P < 0.01$)

Pea>Spm>Put>Spd, 对 μ_{\max} 的影响顺序是 Pea>Spm>Spd>Put。芳香胺 Pea 占到了影响的首位, 多胺物质中的 Spm 作用最大。取得最大 μ_{\max} 的生物胺浓度组合为: Pea25、Put0、Spd100、Spm100 (单位: nmol/L)。另外, 方差分析结果显示, Pea 和 Spm 对 B_f 影响具有显著性差异($P < 0.05$)。

2.2 四种生物胺对塔玛亚历山大藻生长的影响

较之东海原甲藻, 生物胺表现出了对塔玛亚历山大藻生长更为明显的促进作用, 见表 5。与未添加生物胺的 1 号实验组相比, 2—16 号实验组的 μ_{\max} 均有升高, 且升高幅度显著。同时, 终止生物量 B_f 均有不同程度的降低, 降低程度总体上也比东海原甲藻大。同样从未添加 2-苯基乙胺的 1—4 号实验组可以看出,

多胺能够促进塔玛亚历山大藻的生长。而在添加高浓度 2-苯基乙胺的 13—16 号实验组, 这种促进作用更为显著。因此对塔玛亚历山大藻的生长, 2-苯基乙胺可能与多胺起到了协同作用。

四种生物胺对塔玛亚历山大藻 B_f 的影响顺序是: Pea>Put>Spd>Spm, 对 μ_{\max} 的影响顺序是 Pea>Spd>Put>Spm, 见表 6。Pea 依旧占据最主要影响。但多胺物质中对东海原甲藻作用最强的 Spm, 却排在了对塔玛亚历山大藻作用强弱的最后一位。Spd 转而扮演促进藻细胞生长的主要角色。取得最大 μ_{\max} 的生物胺浓度组合为: Pea100、Put25、Spd100、Spm5 (单位: nmol/L)。同时, 方差分析结果显示了 Pea 和 Spd 对 μ_{\max} 影响的极显著差异性($P < 0.01$)。

表 5 不同生物胺添加条件下塔玛亚历山大藻的终止生物量 B_f ($\times 10^6$ cell/L) 和最大生长速率 μ_{\max} [$\times 10^6$ cell/(L·d)]
 Tab.5 The final biomass B_f ($\times 10^6$ cell/L) and maximum growth rate μ_{\max} [$\times 10^6$ cell/(L·d)] of *A. tamarense* under different biogenic amine type and concentration

实验号	因素水平				结果				
	Pea	Put	Spd	Spm	B_f	$\pm B_f$	μ_{\max}	$\pm \mu_{\max}$	R^2
1	1	1	1	1	20.89	2.31	0.49	0.06	0.936
2	1	2	2	2	13.72	0.52	0.58	0.00	0.986
3	1	3	3	3	11.95	0.68	0.58	0.02	0.990
4	1	4	4	4	17.61	5.74	0.63	0.03	0.985
5	2	1	2	3	15.12	0.24	0.74	0.02	0.990
6	2	2	1	4	10.08	0.76	0.63	0.03	0.983
7	2	3	4	1	15.52	1.19	0.84	0.03	0.994
8	2	4	3	2	15.16	2.86	0.84	0.07	0.997
9	3	1	3	4	18.19	0.96	1.01	0.02	0.996
10	3	2	4	3	19.24	1.28	1.06	0.01	0.995
11	3	3	1	2	14.12	0.60	0.89	0.06	0.997
12	3	4	2	1	16.91	0.98	0.88	0.03	0.996
13	4	1	4	2	18.78	2.11	1.19	0.07	0.995
14	4	2	3	1	16.28	2.54	1.12	0.12	0.992
15	4	3	2	4	18.22	1.35	1.15	0.00	0.996
16	4	4	1	3	20.40	1.88	0.80	0.08	0.993

表 6 塔玛亚历山大藻正交实验的极差分析

Tab.6 The orthogonal experimental range analysis of *A. tamarense*

项目		生长参数							
		B_f ($\times 10^6$ cell/L)				μ_{\max} [$\times 10^6$ cell/(L·d)]			
		Pea	Put	Spd	Spm	Pea**	Put	Spd**	Spm
各因素水	X_1	16.043	18.246	16.376	17.403	0.571	0.856	0.702	0.835
平平均	X_2	13.969	14.833	15.993	15.446	0.764	0.847	0.839	0.875
	X_3	17.118	14.953	15.395	16.678	0.959	0.868	0.889	0.796
	X_4	18.420	17.519	17.788	16.025	1.065	0.788	0.928	0.852
	极差	R	4.451	3.413	2.393	1.957	0.494	0.080	0.226

注: **表示影响有极显著差异 ($P < 0.01$)

2.3 四种生物胺对海链藻生长的影响

对硅藻门的海链藻进行生长曲线的拟合, 结果见表 7。通过参数 μ_{\max} 可以看出, 相比未添加生物胺的 1 号实验组, 生物胺对海链藻的生长也是以促进作用为主。同时, 终止生物量 B_f 多有不同程度的下降。不过, 生物胺对海链藻生长的促进作用大小, 2-苯基乙胺和多胺作用的趋势规律, 不及对塔玛亚历山大藻的明显。

由表 8 可以看出, 与对前述两种甲藻 B_f 和 μ_{\max} 影响最大的均是 2-苯基乙胺不同, 海链藻终止生物量 B_f 主要受亚精胺的影响, 其次为腐胺, 具体顺序为: Spd>Put>Pea>Spm; 而对 μ_{\max} 的影响最大的依旧是 2-苯基乙胺, 具体顺序为: Pea>Spd>Put>Spm。取得最大

μ_{\max} 的生物胺浓度组合为: Pea100、Put25、Spd0、Spm5 (单位: nmol/L)。且方差分析结果显示, Pea、Spd 和 Put 对 μ_{\max} 的影响有显著差异 ($P < 0.05$), 其中, Pea 和 Spd 差异性达到极显著水平 ($P < 0.01$)。

2.4 四种生物胺对中肋骨条藻生长的影响

中肋骨条藻的 μ_{\max} 表现了与上述三种赤潮藻对生物胺不同的响应: 对照未添加生物胺的 1 号实验组, 生物胺对中肋骨条藻的生长并未表现出明显的促进作用, 部分实验组还出现了明显的抑制作用。未添加 2-苯基乙胺时 (见表 9 中 1—4 号实验组), 高浓度多胺条件下, 生长受到抑制。而在添加高浓度的 2-苯基乙胺时, 生长受到的抑制更为明显 (见表 9 中 13—16 号实验组)。终止生物量 B_f 也多有不同程度的下降。

表 7 不同生物胺添加条件下海链藻的终止生物量 B_f ($\times 10^7$ cell/L) 和最大生长速率 μ_{\max} [$\times 10^7$ cell/(L·d)]
 Tab.7 The final biomass B_f ($\times 10^7$ cell/L) and maximum growth rate μ_{\max} [$\times 10^7$ cell/(L·d)] of *Thalassiosira* sp. under different biogenic amine type and concentration

实验号	因素水平				结果				
	Pea	Put	Spd	Spm	B_f	$\pm B_f$	μ_{\max}	$\pm \mu_{\max}$	R^2
1	1	1	1	1	16.96	0.25	2.98	0.03	0.992
2	1	2	2	2	15.27	0.51	3.04	0.01	0.997
3	1	3	3	3	17.16	1.00	3.14	0.19	0.991
4	1	4	4	4	14.56	0.34	2.97	0.12	0.996
5	2	1	2	3	14.76	0.21	2.92	0.09	0.993
6	2	2	1	4	14.33	0.86	2.86	0.31	0.995
7	2	3	4	1	13.78	0.18	2.88	0.06	0.997
8	2	4	3	2	18.11	0.11	3.46	0.17	0.995
9	3	1	3	4	15.71	0.24	3.35	0.00	0.998
10	3	2	4	3	14.98	0.11	2.93	0.04	0.997
11	3	3	1	2	16.80	0.14	3.71	0.02	0.998
12	3	4	2	1	16.10	0.59	3.12	0.03	0.997
13	4	1	4	2	13.54	0.68	2.94	0.06	0.998
14	4	2	3	1	16.53	1.00	3.51	0.45	0.998
15	4	3	2	4	17.66	1.11	3.94	0.11	0.999
16	4	4	1	3	17.48	0.10	3.98	0.05	0.998

表 8 海链藻正交实验的极差分析
 Tab.8 The orthogonal experimental range analysis of *Thalassiosira* sp.

项目	生长参数								
	B_f ($\times 10^7$ cell/L)				μ_{\max} [$\times 10^7$ cell/(L·d)]				
	Pea	Put	Spd	Spm	Pea**	Put*	Spd**	Spm	
各因素水	X_1	15.988	15.243	16.394	15.842	3.034	3.049	3.384	3.124
平平均	X_2	15.245	15.277	15.945	15.929	3.030	3.085	3.257	3.288
	X_3	15.896	16.350	16.876	16.096	3.279	3.418	3.367	3.243
	X_4	16.303	16.561	14.216	15.563	3.592	3.383	2.928	3.280
极差	R	1.058	1.318	2.660	0.533	0.562	0.369	0.456	0.164

注: *表示影响有显著差异($P < 0.05$), **表示影响有极显著差异($P < 0.01$)

分析中肋骨条藻的正交实验结果(表 10)。对 B_f 和 μ_{\max} 两种生长参数, 四种生物胺极差 R 值的大小顺序均依次为: Pea>Spm>Put>Spd。方差分析表明 Pea 对 μ_{\max} 的影响有极显著差异($P < 0.01$)。

3 讨论

不同的生物胺对各赤潮藻生长的影响大小、趋势均存在差异。

对本研究中的四种赤潮藻生长影响最大的为 2-苯基乙胺, 且 2-苯基乙胺对各赤潮藻生长的影响趋势不尽相同。在中肋骨条藻培养液中添加高浓度的 2-苯基乙胺, 生长受到明显的抑制。而高浓度的 2-苯

基乙胺对塔玛亚历山大藻生长促进作用显著。至于在东海原甲藻和海链藻中, 它们与多胺是协同作用还是拮抗作用, 还不能妄下结论。目前对 2-苯基乙胺鲜有深入、充分的研究(Berry, 2004; Sengupta *et al.*, 2010)。2-苯基乙胺在植物体内发挥何种生理作用, 目前的认识几乎空白。至 2009 年, 才首次有海洋藻类中 2-二苯基乙胺的定量分析报道(Percot *et al.*, 2009)。因此, 2-苯基乙胺对赤潮藻生长的影响出现差别的原因, 2-苯基乙胺在海洋藻类生长中扮演的角色、代谢的过程、作用的机理等, 尚需进一步的研究。本实验室之前通过测定中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)、旋链角毛藻(*Chaetoceros curvisetus*)、柔弱角毛藻

表 9 不同生物胺添加条件下中肋骨条藻的终止生物量 $B_f(\times 10^7 \text{ cell/L})$ 和最大生长速率 $\mu_{\max}[\times 10^7 \text{ cell/(L}\cdot\text{d)}]$ Tab.9 The final biomass $B_f(\times 10^7 \text{ cell/L})$ and maximum growth rate $\mu_{\max}[\times 10^7 \text{ cell/(L}\cdot\text{d)}]$ of *S. costatum* under different biogenic amine type and concentration

实验号	因素水平				结果				
	Pea	Put	Spd	Spm	B_f	$\pm B_f$	μ_{\max}	$\pm \mu_{\max}$	R^2
1	1	1	1	1	31.95	0.91	8.10	0.52	0.997
2	1	2	2	2	33.96	5.22	8.49	0.53	0.996
3	1	3	3	3	30.78	0.08	8.03	0.10	0.998
4	1	4	4	4	30.14	0.73	7.26	0.06	0.998
5	2	1	2	3	31.24	0.44	7.80	0.36	0.998
6	2	2	1	4	30.44	0.06	8.26	0.15	0.997
7	2	3	4	1	31.93	1.92	8.58	0.39	0.996
8	2	4	3	2	33.94	3.78	8.61	0.61	0.999
9	3	1	3	4	28.76	0.65	7.53	0.25	0.995
10	3	2	4	3	31.82	3.29	8.25	0.65	0.993
11	3	3	1	2	29.64	1.11	7.62	0.26	0.990
12	3	4	2	1	28.56	0.50	7.30	0.17	0.996
13	4	1	4	2	28.52	2.37	7.04	0.42	0.996
14	4	2	3	1	27.49	0.62	6.59	0.00	0.997
15	4	3	2	4	28.46	0.32	6.68	0.11	0.998
16	4	4	1	3	29.91	0.50	6.52	0.51	0.993

表 10 中肋骨条藻正交实验的极差分析

Tab.10 The orthogonal experimental range analysis of *S. costatum*

项目	生长参数								
	$B_f(\times 10^7 \text{ cell/L})$				$\mu_{\max}[\times 10^7 \text{ cell/(L}\cdot\text{d)}]$				
	Pea	Put	Spd	Spm	Pea**	Put	Spd	Spm	
各因素水	X_1	31.71	30.119	30.486	29.983	7.969	7.62	7.627	7.644
平平均	X_2	31.886	30.928	30.556	31.517	8.314	7.897	7.569	7.937
	X_3	29.697	30.202	30.242	30.936	7.675	7.728	7.691	7.649
	X_4	28.595	30.638	30.604	29.452	6.708	7.421	7.779	7.435
极差	R	3.291	0.809	0.362	2.065	1.606	0.476	0.210	0.502

注: **表示影响有极显著差异($P < 0.01$)

(*Chaetoceros debilis*)、双突角毛藻(*Chaetoceros didymus*)和三角褐指藻(*Phaeodactylum tricorutum*)五种硅藻生长的海水中生物胺含量,发现 2-苯基乙胺浓度远高于多胺(腐胺、亚精胺和精胺)(付敏, 2010)¹⁾。本研究显示, 2-苯基乙胺可能是一种可以显著影响赤潮藻类生长的生物胺。2010 年东海赤潮暴发期间,海水中的 2-苯基乙胺浓度最高超过了 200nmol/L。因此推测, 2-苯基乙胺可能在当年的赤潮过程中发挥了一定作用。

三种多胺类物质腐胺、亚精胺和精胺,对本研究中四种赤潮藻的生物效应存在差异。向培养液中单独添加低浓度的多胺物质(腐胺、亚精胺和精胺)时,甲藻门的东海原甲藻和塔玛亚历山大藻前期生长受到的促进作用大于硅藻门的中肋骨条藻(嵯鹏基, 2008)²⁾。本实验在混合添加多胺的条件下,甲藻(东海原甲藻和塔玛亚历山大藻)生长受到的促进作用也是大于硅藻(海链藻和中肋骨条藻)的,高浓度的多胺甚至会抑制中肋骨条藻的生长。对塔玛亚历山大藻和海

1) 付 敏, 2010. 高效液相色谱法测定海水中多胺的研究. 北京: 中国科学院研究生院硕士学位论文, 27—36
2) 嵯鹏基, 2008. 化感作用对东海赤潮演替的影响. 北京: 中国科学院研究生院硕士学位论文, 23—34

链藻生长影响最大的多胺物质为亚精胺, 对东海原甲藻和中肋骨条藻生长影响最大的多胺物质为精胺。Nishibori 等(1997)检测到, 塔玛亚历山大藻细胞中最主要的多胺是亚精胺。同样以亚精胺为细胞内主要多胺的卡盾氏藻(*Chattonella antiqua*), 体内游离态的亚精胺含量与细胞生长率呈线性正相关(Nishibori *et al*, 2004)。由此推测, 藻体内主要多胺的种类, 与藻体对外源多胺响应的种类之间可能存在某种联系。不同的藻类, 体内主要多胺种类也不同, 这或许与它们的进化过程有关(Hamana *et al*, 2004)。

对东海原甲藻和中肋骨条藻影响最大的精胺, 在 2010 年东海赤潮暴发期的海水中浓度最高, 且在赤潮演替过程中浓度变化最为显著。有报道认为, 法国沿岸春季硅藻赤潮消亡释放的腐胺, 与对腐胺敏感的米氏凯伦藻的暴发存在一定的关系(Gentien, 1998)。挪威 Ofotfjord-Tysfjord 区域金藻 *Chrysochromulina leadbeateri* 的暴发可能与鲱鱼死亡分解释放的多胺有关(Maestrini *et al*, 1999)。东海于 2010 年 4 月上旬暴发了中肋骨条藻, 4 月下旬演替为中肋骨条藻和东海原甲藻共存, 5 月上旬为东海原甲藻赤潮。精胺随着中肋骨条藻由盛及衰和东海原甲藻的暴发, 呈现了明显的先升高后降低趋势(李彩艳, 2011)¹⁾。推测中肋骨条藻消亡期间, 海水中高含量的精胺被东海原甲藻吸收, 刺激了东海原甲藻的生长, 利于东海原甲藻发展成为优势种。浓度次之的腐胺也呈现了相似的变化趋势, 因此, 多胺可能是 2010 年东海赤潮由中肋骨条藻向东海原甲藻演替的一个诱导因素, 其中精胺可能发挥的作用较大。

参 考 文 献

- 王宗灵, 李瑞香, 朱明远等, 2006. 半连续培养下东海原甲藻和中肋骨条藻种群生长过程与种间竞争研究. 海洋科学进展, 24(4): 495—503
- 李志军, 吴永宁, 薛长湖, 2004. 生物胺与食品安全. 食品与发酵工业, 30(10): 84—91
- 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
- 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
- 袁祖丽, 刘秀敏, 李华鑫, 2008. 多胺与环境胁迫关系研究进展. 西北植物学报, 28(9): 1912—1919
- Berry M D, 2004. Mammalian central nervous system trace amines. Pharmacologic amphetamines, physiologic neuro-modulators. Journal of Neurochemistry, 90(2): 257—271
- Broadley K J, 2010. The vascular effects of trace amines and amphetamines. Pharmacology and Therapeutics, 125(3): 363—375
- Christopher J G, Amanda B, Florian K *et al*, 2012. The role of nitrogenous nutrients in the occurrence of harmful algal blooms caused by *Cochlodinium polykrikoides* in New York estuaries (USA). Harmful Algae, 17: 64—74
- Fuell C, Elliott K A, Hanfrey C C *et al*, 2010. Polyamine biosynthetic diversity in plants and algae. Plant Physiology and Biochemistry, 48: 513—520
- Gentien P, 1998. Bloom Dynamics and Ecophysiology of the *Gymnodinium mikimotoi* Complex. In: Anderson D M, Cembeila A D, Hallegraeff G M ed. Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms. Berlin: Springer-Verlag, 155—173
- Gueven K C, Percot A, Sezik E, 2010. Alkaloids in marine algae. Marine Drugs, 8(2): 269—284
- Hamana K, Sakamoto A, Nishina M *et al*, 2004. Cellular polyamine profile of the phyla Dinophyta, Apicomplexa, Ciliophora, Euglenozoa, Cercozoa and Heterokonta. Journal of General and Applied Microbiology, 50(5): 297—303
- Handa A K, Mattoo A K, 2010. Differential and functional interactions emphasize the multiple roles of polyamines in plants. Plant Physiology and Biochemistry, 48: 540—546
- Maestrini S Y, Balode M, Bechemin C *et al*, 1999. Nitrogenous organic substances as potential nitrogen sources, for summer phytoplankton in the Gulf of Riga, eastern Baltic Sea. Plankton Biology and Ecology, 46(1): 8—17
- Mohapatra S, Cherry, Minocha R *et al*, 2010. The response of high and low polyamine-producing cell lines to aluminum and calcium stress. Plant Physiology and Biochemistry, 48: 612—620
- Nishibori N, Fujihara S, Nishijima T, 2006. Changes in intracellular polyamine concentration during growth of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae). Fisheries Science, 72: 350—355
- Nishibori N, Matuyama Y, Uchida T *et al*, 2003. Spatial and temporal variations in free polyamine distributions in Uranoichi Inlet, Japan. Marine Chemistry, 82: 307—314
- Nishibori N, Nishii A, Takayama H, 2001. Detection of free polyamine in coastal seawater using ion exchange chromatography. ICES Journal of Marine Science, 58: 1201—1207

1) 李彩艳, 2011. 东海赤潮高发区中的多胺及在赤潮演替中的作用初探. 北京: 中国科学院研究生院硕士学位论文, 23—30

- 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: 51—55
- Nishibori N, Nishio S, 1997. Occurrence of polyamines in the broom forming toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. *Fisheries Science*, 63(2): 319—320
- Percot A, Yalcin A, Aysel V *et al*, 2009. Beta-Phenylethylamine content in marine algae around Turkish coasts. *Botanica Marina*, 52(1): 87—90
- Sengupta T, Mohanakumar K P, 2010. 2-Phenylamine, a constituent of chocolate and wine, causes mitochondrial complex-I inhibition, generation of hydroxyl radicals and depletion of striatal biogenic amines leading to psycho-motor dysfunctions in Balb/c mice. *Neurochemistry International*, 57: 637—646
- Wang X L, Deng N N, Zhu C J *et al*, 2004. Effect of nutrients (phosphate and nitrate) composition on the growth of HAB alga. *Periodical of Ocean University of China*, 34(3): 453—460
- Zeev K, 2011. The reduced mobility of the biogenic amines: trimethylamine, putrescine, cadaverine, spermidine and spermine. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry*, 14(1): 3—6

HOW THE BIOGENIC AMINES AFFECT HAB ALGAE'S GROWTH: A PRELIMINARY EXPLORATION

LIANG Cong-Cong^{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*; 2. *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049*)

Abstract Two species of dinoflagellates (*Prorocentrum donghaiense*, *Alexandrium tamarense*) and diatoms (*Skeletonema costatum*, *Thalassiosira* sp.) which are common in frequent-HAB area of East China Sea were selected in $L_{16}(4^5)$ orthogonal tests. Four biogenic amines, 2-phenylethylamine, putrescine, spermidine, and spermine, commonly detected in seawater during HAB time, were taken as test factors in four levels of 0, 5, 25, 100nmol/L. The nonlinear curve fitting with logistic growth model show that the influences varied in degree and trend when different biogenic amines acted on different HAB algae. Among them, 2-phenylethylamine was the most significant impact factor on the HAB algae's growth. Spermidine affected *A. tamarense* and *Thalassiosira* sp. the most, while spermine had the biggest influence on *P. donghaiense* and *S. costatum* in three tested polyamines. Polyamines were considered as factors that affected the succession of HAB from *S. costatum* to *P. donghaiense* in East China Sea, 2010, of which spermine may be the dominating factor.

Key words Biogenic amine; HAB algae; Orthogonal test