

多胺对几种海洋微藻扩繁的影响

娄亚敏, 赖雯奕, 徐继林*, 周成旭, 严小军

(宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315211)

摘要: 为探究多胺对海洋微藻扩繁的影响, 在外加外源多胺条件下对假微型海链藻、角毛藻、东海原甲藻、扁藻和微绿球藻进行室内培养。结果表明: 在适宜温度条件下(23 °C), 外源多胺对不同微藻生长差别很大, 其中对硅藻扩繁促进效应比较稳定; 而对其他门类的微藻, 外源多胺的促进效果比较差, 甚至具备一定的抑制效应。而在不同温度条件下, 5 种胺对角毛藻的生长有差异, 其中 23 °C条件下, 与对照相比, 多胺对角毛藻生长是促进作用; 而在 15 °C和 30 °C条件下, 多胺对角毛藻生长起抑制作用。

关键词: 多胺; 饵料微藻; 扩繁

中图分类号: Q942.6

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2018) 06-0038-06

多胺是一类含有 2 个及 2 个以上氨基的小分子脂肪族含氮碱, 包括二胺、三胺、四胺及其他胺类。多胺在动物、植物、藻类及微生物体内都存在^[1-2]。作为生物代谢过程中产生的一类具有生物活性的小分子, 多胺主要包括腐胺(putrescine, Put)、亚精胺(spermidine, Spd)、精胺(spermine, Spm)、尸胺(cadaverine, Cad)和 2-苯基乙胺(2-Phenylethylamine, Pea)等^[3-5]。按其存在细胞内的存在形态可分为游离态、结合态和束缚态。多胺作为代谢调节物质在植物体的细胞增殖、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^[6]。现阶段对生物体内多胺参与生长调节和逆境响应的作用机制研究广泛存在于高等植物领域, 其目的是提高农作物的综合逆境抗性^[7-8]。

虽然微藻可通过体内合成多胺, 但合成能力有限。海水中的多胺可以刺激和调控一些赤潮藻的生长和新陈代谢过程^[9-11]。研究显示多胺可能是赤潮发生的一个重要调控因子, 在赤潮暴发期间伴随着浮游植物的大量繁殖, 海水中的多胺浓度呈现升高趋势, 其中 2-苯基乙胺和常见多胺物质会大量增加^[11]。在研究赤潮物种时, Iwasaki 发现外源多胺可以刺激和调控赤潮^[12], 0.1~5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 范

围内的外源腐胺会促进米氏凯伦藻(*Karenia miki-motoi*)的生长, 有关研究显示法国沿岸春季发生硅藻赤潮和后来的米氏凯伦藻赤潮就可能与硅藻赤潮消亡时释放出的腐胺有关^[13-14]。由此可见外源多胺对海洋微藻生长影响十分重要, 但目前针对外源多胺对不同微藻影响差别的报道很少。

本文利用实验室条件下培养包括硅藻在内的几种海洋微藻, 利用外源多胺探究多胺对不同种属海洋微藻类生长的影响。通过探究在同一温度下, 外源多胺对不同种微藻以及不同温度下同一微藻在不同多胺条件下的生长差异, 来认识多胺对不同微藻生长差异的影响, 为实际生产中优质饵料微藻的扩繁摸索更为有益的培养条件。

1 实验部分

1.1 实验材料来源和处理

研究选取的东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)、微绿球藻(*Nannochloris* sp.)、假微型海链藻(*Thalassiosira pseudonana*)、扁藻(*Tetraselmis helgolandica*)和角毛藻(*Chaetoceros* sp.)由宁波大学海洋生物工程实验室微藻种质库提供。培养海水培养基(盐度 26)经 0.45 μm 醋酸纤维滤膜过滤后,

收稿日期: 2017-12-18.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journalg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-49); 浙江省自然科学基金(LY15C190004); 宁波市科技攻关项目(2017C110003)。

第一作者: 娄亚敏(1991—), 女, 河南驻马店人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 微藻生态学。E-mail: 2816014206@qq.com

*通信作者: 徐继林(1965—), 男, 江苏泰州人, 博导/研究员, 主要研究方向: 海洋生物化学。E-mail: xujilin@nbu.edu.cn

煮沸冷却, 培养液采用“NML3”配方($100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KNO_3 , $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KH_2PO_4 , $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Na_2SiO_3 , $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTANa_2 , $6 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ VB_1 , $0.05 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ VB_{12})^[15]. 藻种预先在上述海水培养基中驯化. 藻培养温度 23°C , 光照强度 4000 lx , 光暗比为 $\text{L:D}=12:12(\text{h/h})$.

1.2 实验试剂

多胺标准腐胺、尸胺、亚精胺、精胺和苯乙胺 ($\geq 99\%$) 购自美国 Sigma 公司;

1.3 实验设计

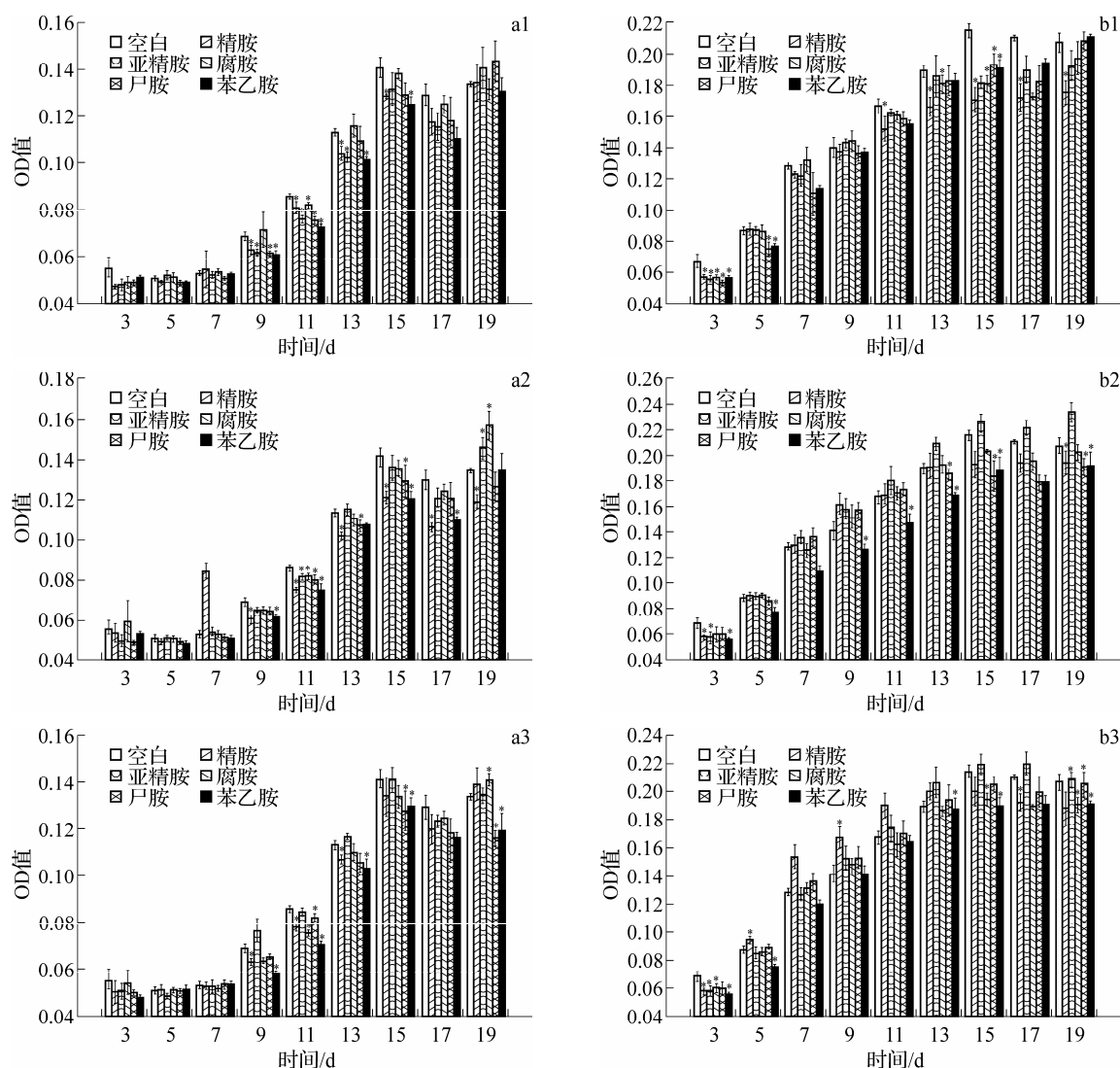
分别以腐胺、尸胺、亚精胺、精胺、苯乙胺作为外源物质, 参考海水中多胺本底浓度值^[12-13], 每种胺设置 $0, 5, 25, 100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 4 个梯度, 初始接种

密度 1.0×10^4 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$, 培养体积为 80 mL , 实验设置 3 个平行, 每天定时摇瓶 2 次, 隔天取适量藻液, 用酶标仪于 680 nm 处测定吸光值^[16-17]. 实验在 23°C 下静置培养. 为了考察不同温度条件下多胺对硅藻培养的影响, 选择具有广温性藻种即角毛藻作为研究对象, 另外增加 15°C 和 30°C 实验组.

2 结果与分析

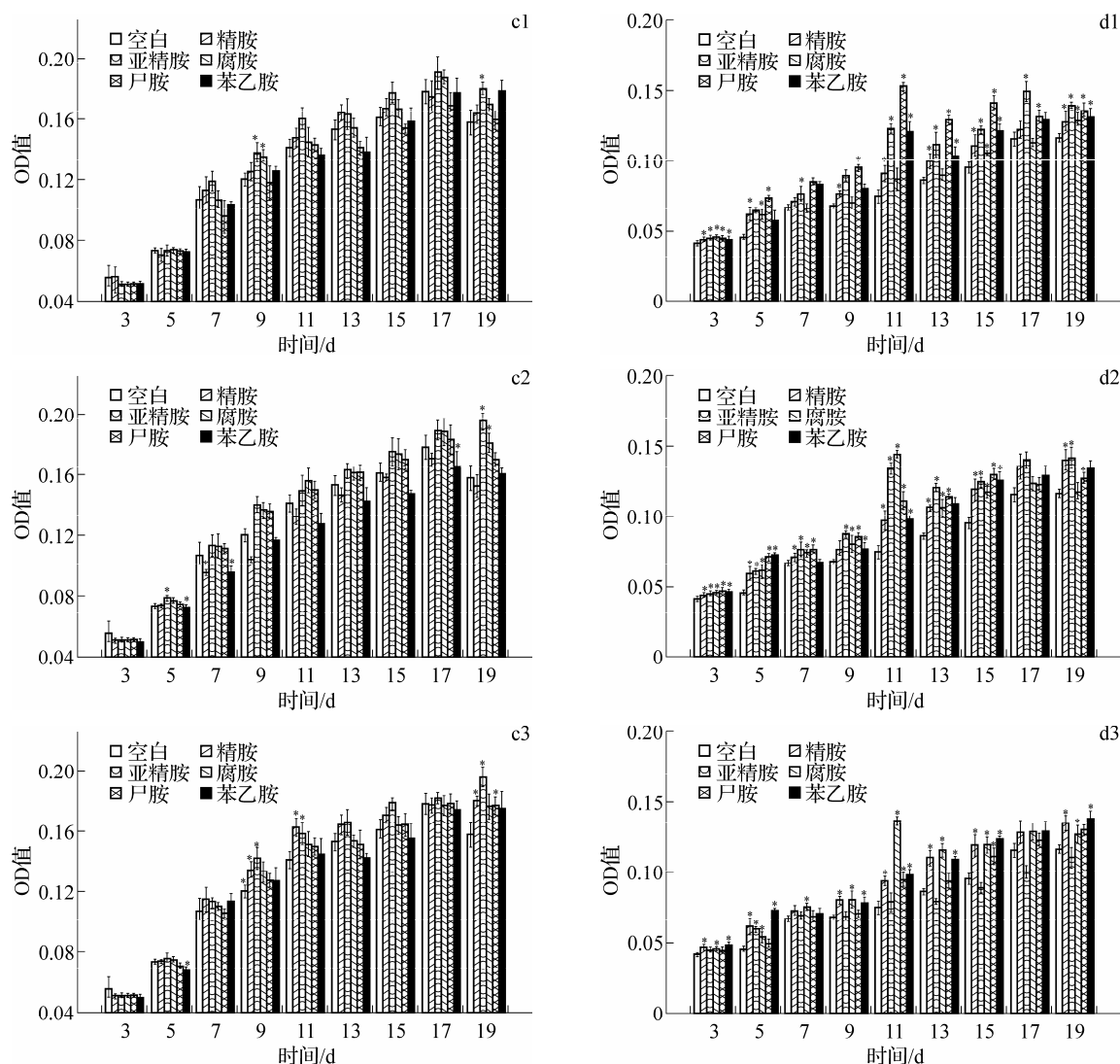
2.1 不同温度下不同多胺对角毛藻生长的差异比较

多胺在不同温度下对角毛藻生长的影响如图 1 和图 2 所示. 经单因子方差分析结果表明, 不同温度下 5 种胺对角毛藻的生长具有明显差异 ($p < 0.05$). 如图 1 所示, 在 15°C 下, 5 种胺对角毛藻的生长都



a: 温度 15°C ; b: 温度 30°C ; 1: 多胺浓度为 $5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 2: 多胺浓度为 $25 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 3: 多胺浓度为 $100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$.

图 1 不同温度下多胺对角毛藻生长的影响



c: 角毛藻; d: 假微型海链藻; 1: 5 种多胺浓度为 $5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 2: 5 种多胺浓度为 $25 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 3: 5 种多胺浓度为 $100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$.

图2 23 °C下不同多胺对角毛藻和假微型海链藻生长的影响

表现出抑制效应, 且抑制作用与胺的种类和浓度有很大关系, 其中以精胺和苯乙胺的抑制作用最为显, 从接种 9 d 开始, 细胞密度一直小于对照组 ($p < 0.05$), 且以 $5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 苯乙胺和 $25 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 精胺抑制作用最强. 当多胺浓度达到 $100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 相对与以上 2 种浓度, 多胺的抑制作用相对下降.

由图 2 可见, 23 °C下多胺对角毛藻的生长与 15 °C下有明显不同. 当多胺浓度为 $5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时(图 2(c1)), 尸胺和苯乙胺对角毛藻生长为抑制状态, 而精胺、亚精胺和腐胺对角毛藻生长总体上是促进作用, 其中以亚精胺促进效果最强; 当多胺浓度在 $25 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时(图 2(c2)), 精胺和苯乙胺表现为抑制作用, 亚精胺、腐胺和尸胺表现为促进作用, 以亚

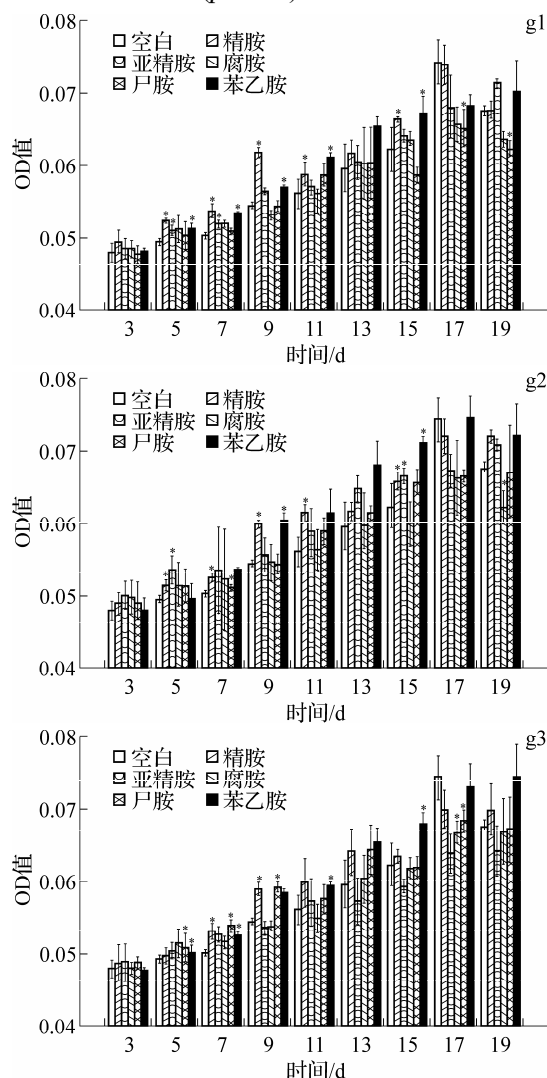
精胺促进作用为最强; 当多胺浓度在 $100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时(图 2(c3)), 尸胺和苯乙胺对角毛藻是抑制作用, 精胺、亚精胺和腐胺对角毛藻是促进作用, 其中以亚精胺的促进作用最强. 所以 23 °C下 $25 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度的亚精胺对角毛藻的促进作用最强.

角毛藻在 30 °C的温度下(图 1)与空白相比, 可以看出多胺对角毛藻的生长有很大差异, 在 3 种浓度梯度下多数胺对角毛藻还是以抑制为主, 只有 $25 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (图 1(b2))的亚精胺对角毛藻的生长表现出促进作用.

2.2 多胺对不同微藻生长影响的差异比较

结果显示, 在此培养温度下, 多胺对东海原甲藻生长与多胺的浓度有关(图 3), 其中 $25 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$

的精胺和苯乙胺促进效果相对其他几种胺的各浓度梯度较好, 其他胺在各浓度梯度下对东海原假藻促进作用不显著($p < 0.05$).



g: 东海原甲藻; 1: 5 种多胺浓度为 $5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 2: 5 种多胺浓度为 $25 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$; 3: 5 种多胺浓度为 $100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$

图3 23 °C下不同多胺对东海原甲藻生长的影响

相对与不加多胺的空白对照, 多胺对假微型海链藻的生长促进具有显著差异($p < 0.05$)(图2). 在 $5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下(图2(d1)), 以尸胺促进效果最好; 在 $25 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 多胺浓度下(图2(d2)), 以亚精胺的促进效果较好; $100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度时(图2(d3)), 苯乙胺促进作用大于精胺和腐胺. 总体而言, $25 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的亚精胺效果最好(图2(d2)).

如图4所示, 而多胺对扁藻的生长促进作用并不明显($p < 0.05$), 接种9 d之前与对照组相比, 多胺对扁藻生长具有促进作用($p < 0.05$), 但在生长中后

期, $5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的尸胺(图4(f1)), $25 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的亚精胺及尸胺(图4(f2))和 $100 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的精胺及苯乙胺(图4(f3))对扁藻的促进作用会忽然增大, 从接种的13 d开始, 总体上多胺对扁藻生长表现出抑制效果.

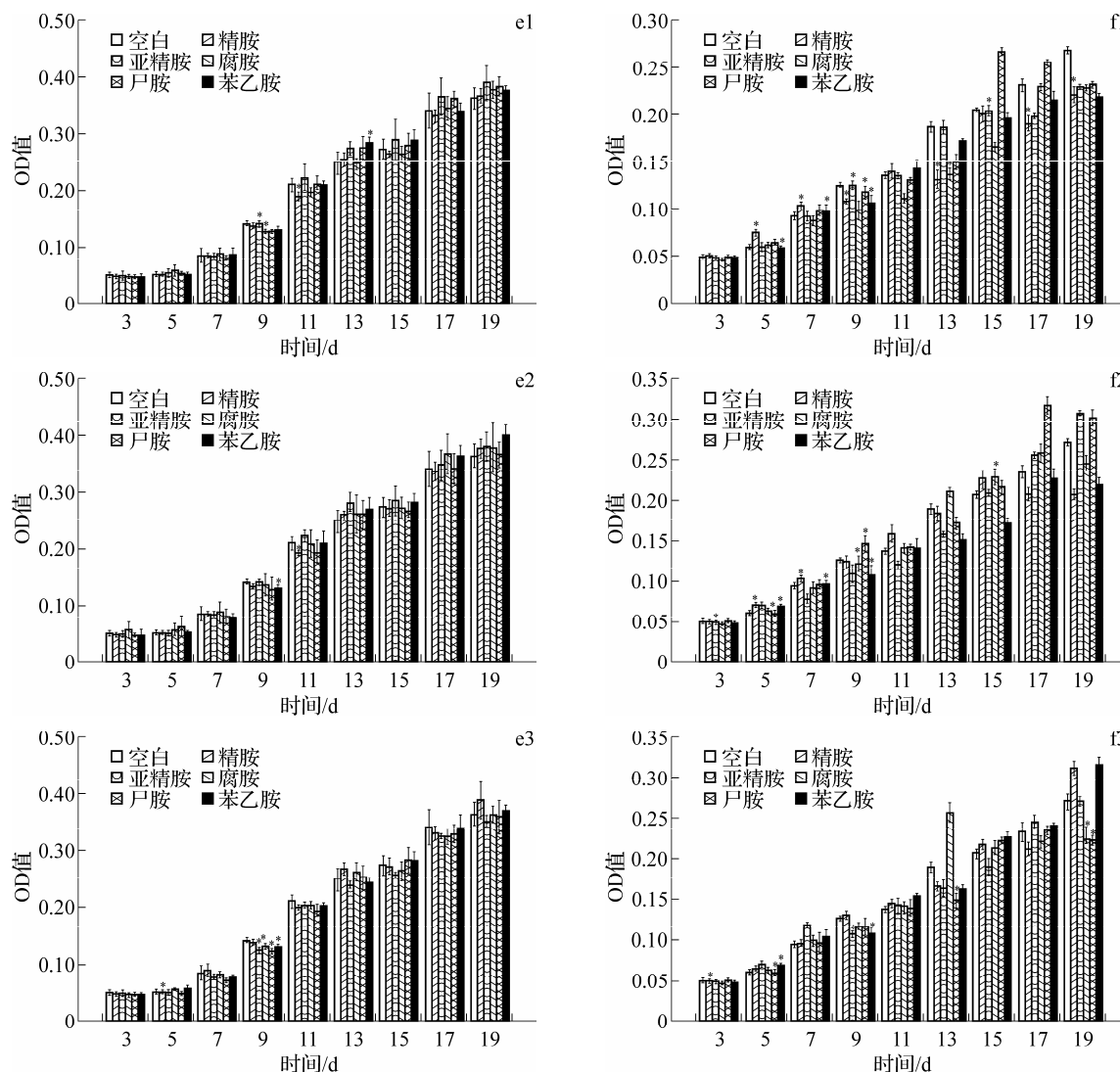
同样, 多胺对微绿球藻生长影响作用不显著($p < 0.05$), 基本上与对照组无差异(图4), 大多情况下多胺浓度增高对微绿球藻生长会有抑制, 只有 $5 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (图4(e1))的亚精胺促进效果相对好一些, 但差异并不明显($p < 0.05$).

3 讨论

通过以上实验发现, 多胺对5种藻生长效应明显不同. 通过对该5种微藻的大量多次培养, 发现在 $23 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 温度条件下, 5种藻均能很好繁殖, 并且与它们来源保藏库的温度相一致. $23 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 是上述5种实验藻可以正常繁殖的温度, 在此温度条件下加入多胺后发现, 多胺对硅藻生长的促进作用明显好于其他门类微藻. 很多研究显示, 在硅藻中存在一种类似于后生生物的尿素循环(即鸟氨酸尿素循环), 而这种特殊的鸟氨酸尿素循环在植物和绿藻中都不存在^[18-21]. 正是此独特的生理机能, 硅藻中氮经过鸟氨酸循环合成精氨酸, 进而合成多胺(精胺)以及硅藻骨架, 最后形成硅壳. 相对绿藻而言, 多胺对硅藻繁殖具备明显的促进作用, 其原因也许正是因为硅藻具备的这种其他藻类中并不具备的鸟氨酸尿素循环所致.

在不同温度下, 外源多胺对角毛藻繁殖影响差异显著(图1~图2). 角毛藻虽然是广温性藻种, 且更适合在高温下培养, 但在外加外源多胺后发现, $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 温度下对角毛藻繁殖的促进作用并不显著, 小于 $23 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 温度下对角毛藻生长繁殖有促进效应, 这可能与角毛藻体内多胺代谢酶在不同的温度下的活性有关. 因为温度是可通过调节代谢酶的活性来调节微藻体内3种形态多胺的含量, 进而调节微藻的生长^[22].

同时由以上实验发现, 外源多胺对藻类生长的影响作用几乎都集中在接种第7天及以后, 此时藻类呈指数生长. 由于藻类大量繁殖, 对于硅藻而言, 硅壳合成对多胺的需求会十分旺盛, 外源多胺可显著增加硅藻的扩繁能力. 而在藻细胞进入生长后期, 由于生长代谢降低, 伴随着藻细胞的裂解



e: 微绿球藻; f: 扁藻; 1: 5 种多胺浓度为 5 nmol·L⁻¹; 2: 5 种多胺浓度为 25 nmol·L⁻¹; 3: 5 种多胺浓度为 100 nmol·L⁻¹.

图 4 23 °C 下不同多胺对微绿球藻和扁藻生长的影响

死亡, 其体内的多胺会释放到生长环境中, 故培养基中的某些多胺含量会增加, 有可能反而会抑制藻细胞的生长^[23].

参考文献:

- [1] 栾红艳, 赵卫红, 苗辉. Cd²⁺胁迫下中肋骨条藻细胞内多胺的生理响应[J]. 中国环境科学, 2015, 35(5):1487-1494.
- [2] Fuell C, Elliott K A, Hanfrey C C, et al. Polyamine biosynthetic diversity in plants and algae[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2010, 48(7):513-520.
- [3] Nishibori N, Nishijima T. Changes in polyamine levels during growth of a red-tide causing phytoplankton *Chattonella antiqua* (Raphidophyceae)[J]. European Journal of Phycology, 2004, 39(1):51-55.
- [4] Nishibori N, Fujihara S, Nishijima L T. Changes in intracellular polyamine concentration during growth of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae)[J]. Fisheries Science, 2006, 72(2):350-355.
- [5] Bachrach U, Davies P J, Serafini-Fracassini D, et al. The early history of polyamine research[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2010, 48(7):490-495.
- [6] Mohapatra S, Cherry S, Minocha R, et al. The response of high and low polyamine-producing cell lines to aluminum and calcium stress[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2010, 48(7):612-620.
- [7] 朱晓文, 赵卫红, 苗辉. 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[J]. 海洋与湖沼, 2015, 46(1):50-57.

- [8] 袁祖丽, 刘秀敏, 李华鑫. 多胺与环境胁迫关系研究进展[J]. 西北植物学报, 2008, 28(9):1912-1919.
- [9] Nishibori N, Nishii A, Takayama H. Detection of free polyamine in coastal seawater using ion exchange chromatography[J]. ICES Journal of Marine Science, 2001, 49(58):1201-1207.
- [10] Nishibori N, Matuyama Y, Uchida T, et al. Spatial and temporal variations in free polyamine distributions in Uranouchi Inlet, Japan[J]. Marine Chemistry, 2003, 82(3): 307-314.
- [11] 李彩艳, 赵卫红, 苗辉. 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[J]. 海洋科学, 2012, 36(4):68-74.
- [12] Iwasaki H. Growth physiology of red tide microorganisms [J]. Microbiological Sciences, 1984, 1(7):179-182.
- [13] Gentien P. Bloom dynamics and ecophysiology of the *Gymnodinium mikimotoi* species complex[J]. Physiological Ecology of Harmful Algal Bloom, 1998, 41:155-173.
- [14] Gentien P. Bloom Dynamics and Ecophysiology of the *Gymnodinium mikimotoi* Complex[M]//Anderson D M, Cembella A D, Hallegraeff G M. Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms. NATOASI Series, Berlin: Springer-Verlag, 1998:155-173.
- [15] 缪志前, 刘知欢, 徐继林, 等. 光照强度对缢蛏稚贝生长的影响[J]. 宁波大学学报(理工版), 2016, 29(2):1-5.
- [16] 沈萍萍, 王朝晖, 齐雨藻, 等. 光密度法测定微藻生物量[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2001, 22(3): 115-119.
- [17] 蔡卓平, 段舜山, 朱红惠. 光密度法与计数法测定3种能源微藻细胞生长的相关性及其验证[J]. 南方农业学报, 2012, 43(10):1480-1484.
- [18] Allen A E, Dupont C L, Oborník M, et al. Evolution and metabolic significance of the urea cycle in photosynthetic diatoms[J]. Nature, 2011, 473(7346):203-207.
- [19] 史家远, 姚奇志, 周根陶. 硅藻细胞壁硅化过程中有机质-矿物的相互作用[J]. 高校地质学报, 2011, 17(1):76-85.
- [20] 梁君荣, 陈丹丹, 高亚辉, 等. 海洋硅藻硅质细胞壁结构的形成机理研究概述[J]. 海洋学报, 2010, 32(5):1-8.
- [21] Sumper M, Brunner E. Learning from Diatoms: Nature's tools for the production of nanostructured silica[J]. Advanced Functional Materials, 2010, 16(1):17-26.
- [22] 朱晓文. 温、盐胁迫下中肋骨条藻、东海原甲藻的生长及其多胺的调节机制研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2014.
- [23] 赵卫红, 王军, 李彩艳, 等. 中肋骨条藻体内及培养液中的游离态多胺[J]. 济南大学学报(自然科学版), 2014, 28(3):165-169.

Effect of polyamines on amplification of several marine microalgae

LOU Ya-min, LAI Wen-yi, XU Ji-lin*, ZHOU Cheng-xu, YAN Xiao-jun

(School of Marine sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: In order to investigate the effects of polyamines on the amplification of the marine microalgae, *Thalassiosira pseudonana*, *Chaetoceros* sp., *Prorocentrum donghaiense*, *Tetraselmis helgolandica* and *Nannochloris* sp. were all cultured in the medium with external polyamines. The results showed that exogenous polyamines produced significant differences in the growth of microalgae at 23 °C, and the effects of polyamines on the expansion of diatoms were relatively stable. For other kinds of microalgae, exogenous polyamines were ineffective and showed the tendency of inhibition. The amplification of the *Chaetoceros* sp. was affected in five kinds of amines under different temperatures, compared with the control group. The effects of polyamines on the amplification of the *Chaetoceros* sp. were enhanced at 23 °C, but decreased at both 15 °C and 30 °C.

Key words: polyamines; microalgae; amplification

(责任编辑 章践立)