

鱼毒性赤潮藻类的次生代谢物

张勇, 杨维东*, 刘洁生

暨南大学生物工程学系, 广州 510632

Secondary Metabolin of Ichthyotoxic Red Tide Algae

ZHANG Yong, YANG Wei-Dong*, LIU Jie-Sheng

Department of Biotechnology, Jinan University, Guangzhou 510632, China

摘要: 本文对近年来引起赤潮, 并对其他海洋生物、生态系统造成危害的米氏凯伦藻次生代谢物溶血毒素、活性氧、脂肪酸和细胞毒素等的产生机制与危害方式的研究进展作一介绍。

关键词: 米氏凯伦藻; 溶血毒素; 脂肪酸; 活性氧; 细胞毒素

赤潮是全球面临的海洋生态灾害之一。近年来, 世界范围内有毒、有害赤潮呈不断上升的趋势。其中, 对海产养殖破坏最大、造成直接经济损失最多、对生态系统破坏最严重的就是鱼毒性赤潮。我国是世界上赤潮发生最为频繁的国家之一, 也是海洋水产养殖大国, 鱼毒性赤潮对我国的海产养殖业造成了巨大的破坏作用, 其主要的鱼毒性赤潮生物有米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)、球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)、赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo*)和海洋卡盾藻(*Chattonella marina*)等, 其中米氏凯伦藻曾多次引发大规模赤潮, 引起海产养殖业的巨大经济损失。

米氏凯伦藻, 属于裸甲藻目(Gymnodiniales), 凯伦藻属(*Karenia*), 中文译名有米氏裸甲藻、米金裸甲藻和长崎裸甲藻等, 是常见的有毒、有害赤潮藻。1935年, Oda在日本京都Gokasho湾首次发现该种, 定名为*Gymnodinium mikimotoi*, 后来陆续在其他海区也有发现, 但名称并不统一, 与其同种异名的有*Gymnodinium nagasakiense*和*Gyrodinium aureolum*等。1998年3~4月, 我国南海大鹏湾、深圳湾、珠江口及内伶仃岛一带海域和香港海域发生大规模米氏凯伦藻赤潮(吕颂辉和黄凯旋2007)。其后, 由米氏凯伦藻引起的赤潮在我国沿海频繁爆发。2004年6月, 天津附近海域发生米氏凯伦藻赤潮; 2005年5月, 长江口外花鸟山、崂山、中街山、朱家尖、虾峙岛等海域发生米氏凯伦藻赤潮; 2007年, 福建省平潭东澳及平潭龙王头海域发生米氏凯伦藻赤潮。这些赤潮的发生引起大量鱼类死亡, 对水产养殖业造成了巨大经济损失, 并严重破坏了海洋生态系统(Neely 2006)。

米氏凯伦藻可引起鱼类的大范围死亡。有研究指出, 米氏凯伦藻完整细胞、破裂细胞和细胞滤液对鲍鱼幼体的10%致死量分别为 $3.3 \times 10^5 \pm 4.1 \times 10^4$ 、 2.6×10^5 和 3.4×10^5 细胞·L⁻¹。半致死量分别为 $1.1 \times 10^6 \pm 2.6 \times 10^4$ 、 1.4×10^6 和 3.2×10^6 细胞·L⁻¹(Botes等2003)。米氏凯伦藻可产生溶血毒素(hemolytic toxin)、脂肪酸(fatty acid)、活性氧(reactive oxygen species, ROS)和细胞毒素等次生代谢物, 这些物质在米氏凯伦藻导致鱼类死亡过程中几乎起到毁灭性作用, 这可能也是米氏凯伦藻导致鱼类死亡的重要原因。

1 溶血毒素

1.1 溶血毒素的成分 溶血毒素是鱼毒性赤潮造成鱼类死亡的重要原因之一。米氏凯伦藻、海洋卡盾藻(Ahmed等1995)、克氏前沟藻(*Amphidinium klebsii*) (宋阳等2004)、球形棕囊藻(刘洁生等2007)和亚历山大藻(*Alexandrium tamarense*) (周成旭等2007)等都能产生溶血毒素。溶血毒素的结构和成分非常复杂, 主要为糖脂类、糖甙类和不饱和多脂肪酸类化合物, 也有少数蛋白质和肽类物质。目前研究得比较清楚的溶血毒素是球形棕囊藻和小定鞭藻(*Prymnesium parvum*)产生的溶血毒素。球形棕囊藻溶血毒素主要成分是糖脂类物质的混合物, 由一个羰基和 α -D-半乳糖- β -D-半乳糖组成, 其甘油的C-3与脂肪酸由酯键相连(图1)(何家菀等1999)。小定鞭藻产生的溶血毒素主要成分有两

收稿 2008-08-24 修定 2008-10-08

资助 国家自然科学基金-广东省联合基金重点项目(U0733006)。

* 通讯作者(E-mail: tywd@jnu.edu.cn; Tel: 020-85228470)。

种: 定鞭金藻毒素-1 (prymnesin-1, PRM1)和定鞭金藻毒素-2 (prymnesin-2, PRM2), PRM2的分子式为 $C_{96}H_{136}C_{13}NO_{35}$ (Igarashi 等 1999)。

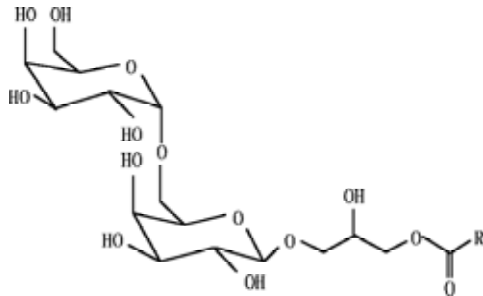


图1 球形棕囊藻溶血毒素结构(何家苑等 1999)

米氏凯伦藻溶血毒素的主要成分为糖脂和不饱和脂肪酸。Parrish 等(1998)发现, 从米氏凯伦藻中获得的一种游离不饱和脂肪酸和二半乳糖基单酰甘油能使鱼致死。他们推测, 米氏凯伦藻溶血毒素是一种含有两个不饱和脂肪酸的糖基二乙酰基甘油, 水解之后可产生一个多不饱和去糖基甘油酯 (lysoglycoglycerolipid) 和一个多不饱和脂肪酸。Parrish 等(1998)指出, 米氏凯伦藻中的单半乳糖甘油二酯(monogalactosyl diglyceride, MGDG)和双半乳糖甘油二酯(digalactosyl diglyceride, DGDG)具有溶血毒性, MGDG 和 DGDG 占米氏凯伦藻脂类的 17%。

Parrish 等(1998)指出, 米氏凯伦藻中溶血活性最高的物质是十八烷基季戊烯酸(octadecapentaenoic acid, OPA), 其次为含 20:5 的二半乳糖单酰基甘油。米氏凯伦藻中 OPA 的含量很大程度上受环境的影响, 在温度为 18 和光照为 $35 \mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 的条件下, OPA 占总脂肪酸的 34% (Gentien 等 2007)。

1.2 溶血毒素的生成与毒害作用 从实验室培养的米氏凯伦藻分离得到的不饱和糖脂对马和罗非鱼的红细胞都具有溶血活性。从米氏凯伦藻赤潮中分离到的溶血毒素能使长须鲸的鳃上皮细胞破裂。鳃组织受损会引起严重的呼吸困难和细菌感染, 最终导致死亡(Neely 2006)。

溶血毒素的产生受多方面因素的影响。研究表明, 球形棕囊藻溶血毒素的合成主要发生在平稳期和衰亡期, 对数生长期产毒很少, 甚至不产毒(刘洁生等 2006)。毒素的合成受温度、盐度、光照等因素的影响。其中, 温度对溶血毒素产生的影响

最为显著。球形棕囊藻在盐度为 4%、温度为 30、光照为 $80 \mu E \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 条件下, 产毒能力最强(郭瑾等 2007)。营养胁迫可增加球形棕囊藻溶血毒素的生成, 氮、铁限制条件下溶血毒素生成明显增高(刘洁生等 2006)。有关环境因素对米氏凯伦藻溶血毒素生成的影响研究报道不多, Neely (2006)研究了环境条件对米氏凯伦藻不同藻株溶血毒素生成的影响, 结果表明, 不同株米氏凯伦藻的溶血活性有显著差异, 其中 B1 溶血活性最高。25、盐度 2.7% 时, 溶血活性是 2 $mg \cdot mL^{-1}$ 皂角甙的 51%; 盐度为 3.5% 时, 是皂角甙的 85%。盐度和温度对米氏凯伦藻的溶血活性均有显著影响。盐度升高时, NOAA2、C5 和 B1 株米氏凯伦藻溶血活性显著升高, 但 C9 明显降低, 而 CCMP429 则保持稳定。温度升高时, CCMP429 毒素产量有所增加。

2 脂肪酸

2.1 脂肪酸的成分 藻类产生的某些脂肪酸可以抵御草食动物, 同时对某些水生生物具有化感作用, 在藻类与其他生物的竞争和相互作用中发挥重要作用。脂肪酸的毒性与不饱和键的数目有关, 随不饱和键数量的增加而增加, 不饱和脂肪酸被氧化后可抑制藻的生长(Wu 等 2006)。研究发现, 米氏凯伦藻可产生长链脂肪酸, 包括 OPA、廿二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)、十六烷基四烯酸(hexadecatetraenoic acid, 16:4n3) (Sellem 等 2000; Mooney 等 2007)、16:4 ω 3、16:1 ω 9c、18:2 ω 6、22:1 ω 9c 等, 其中大部分为不饱和脂肪酸。部分脂肪酸具有溶血活性。

OPA在藻类中比较罕见, 是裸甲藻目的主要不饱和脂肪酸。在球石藻(*Emiliania huxleyi*)中, 大部分 OPA 处于 DGDG 中; 在赤潮异弯藻中, 绝大部分 OPA 则存在于藻的色素质体膜中的 MGDG 中(Bell 等 1997)。OPA 具有很强的溶血活性, 同时对硅藻的生长有一定的抑制作用(Sellem 等 2000)。Parrish 等指出, OPA 已知是米氏凯伦藻中溶血活性最强的物质。OPA 的溶血活性受氧水平的影响, 在低氧条件下, 活性会降低(Wu 等 2006)。

2.2 脂肪酸的毒性作用 OPA 能抑制细胞中 Mg^{2+} -ATP 酶和 Na^+ , K^+ -ATP 酶活性, 使鱼鳃组织的细胞数量和形态发生变化。Sola 等(1999)研究发现, 在 $10^{-3} mol \cdot mL^{-1}$ 的 OPA 作用下肠组织中 Mg^{2+} -ATP 酶的活性是正常组织的 50%, 鳃组织中 Mg^{2+} -ATP 酶

的活性只有28%。 10^{-5} ~ 10^{-3} mol·mL⁻¹范围内, OPA对鳃组织Na⁺, K⁺-ATP酶的抑制作用存在浓度效应关系, 随浓度的增加, 抑制作用越明显。OPA对鳃Na⁺, K⁺-ATP酶的半抑制浓度为 1.6×10^{-4} mol·mL⁻¹; 浓度为 10^{-3} mol·mL⁻¹时, Na⁺, K⁺-ATP酶活性完全被抑制。鱼鳃组织对环境的变化非常敏感, 藻细胞粘在鱼鳃组织中, 藻细胞产生的OPA引致鱼类分泌大量粘液, 从而导致鱼类窒息死亡。鱼鳃组织暴露在 10^{-5} mol·mL⁻¹ OPA时, 鳃细胞的形态会发生轻微的变化如皱缩等, 同时进入初薄片(primary lamellae)的数量减少, 次级薄片(secondary lamellae)和主静脉之间的粘液增多。

OPA对其他海洋动物如海胆等也可造成伤害。Sellem等(2000)发现, 5×10^{-4} mol·mL⁻¹ OPA可使海胆的胚胎细胞周期停滞; 5×10^{-6} mol·mL⁻¹ OPA会造成海胆胚胎的畸形。米氏凯伦藻分泌的OPA对其他藻类的生长也可产生毒害作用。虽然OPA具有自毒作用, 对米氏凯伦藻的生长有抑制作用, 但其他藻类对OPA更为敏感。 1.0 mmol·mL⁻¹的OPA能完全抑制纤角毛藻(*Chaetoceros gracile*)的生长(Gentien等2007)。

3 ROS

3.1 ROS的产生 ROS在植物中广泛存在, 高等植物细胞质膜中的NAD(P)H氧化酶具有产生O₂^{·-}的活性(Kim等2000)。ROS包括超氧负离子O₂^{·-}、H₂O₂和羟基自由基等, 在藻细胞中可以充当信号分子, 调节基因表达和特殊防御蛋白的活性(Okamoto等2001)。Oda等报道, Raphidophyte(针胞藻类)在没有环境胁迫和刺激的情况下, 也能产生O₂^{·-}和H₂O₂, O₂^{·-}和H₂O₂的产生不一定是关联的(Marshall等2005)。Garg等(2007)将海洋卡盾藻于100℃下加热20 min, 然后冷却至-78℃后, 未能检测到过氧化物, 认为过氧化物只有在活细胞中才能产生。

Yamasaki等(2004)发现, 米氏凯伦藻可产生活性氧, 但O₂^{·-}水平比海洋卡盾藻低, H₂O₂大约是海洋卡盾藻的10%。有研究指出, 海洋卡盾藻的表面存在凝集素结合位点和O₂^{·-}产生的信号转导系统。五条鲷(*Seriola quinqueradiata*)和其他鱼种鳃分泌的粘液可以增加O₂^{·-}的产生, 藻生成的O₂^{·-}因粘液的分泌放大信号, 导致鱼鳃组织受到更严重的伤害(Kim等2000)。与海洋卡盾藻不同, 外源凝集素如刀豆球蛋白A(Con A)、小麦胚凝集素(wheatgermagglutinin,

WGA)、鱼皮肤和鱼鳃粘液物质不会诱导米氏凯伦藻O₂^{·-}的生成(Yamasaki等2004)。

米氏凯伦藻细胞内可能存在专门储存H₂O₂的细胞器(Yamasaki等2004)。Yamasaki等(2004)研究发现, 在米氏凯伦藻细胞悬液中加入过氧化氢酶后, H₂O₂没有检出; 加入SOD后, 有微量H₂O₂检出。经超声波破裂的细胞悬液中H₂O₂含量明显高于经SOD处理的细胞悬液。

ROS的产生受很多因素的影响, 藻类持续处于不良环境, 如光强度太高、紫外光辐射、营养不足、盐度过高、极端温度、缺氧和各种各样的有毒化合物等都会增加ROS的产生(Perelman等2006)。CO₂的不足也会导致ROS的产生。Vardi等(1999)发现, 即使光强度远低于最大光合作用的需求, ROS的产生仍取决于CO₂的浓度。

3.2 ROS的毒害作用 O₂^{·-}能氧化细胞膜的膜脂, 使核酸和蛋白质变性。鱼暴露在旋沟藻(*Cochlodinium* sp.)之后, 鱼鳃出现水肿, 上皮组织薄片出现分离, 但鱼的内脏器官并无明显病变, 说明鳃的氧化损伤可能是导致鱼类死亡的原因(Kim等2002)。

ROS对藻类细胞也有毒害作用。Vardi等(1999)的研究表明, 细胞内ROS的积累会导致原生质体的皱缩和DNA的断裂, 最后造成细胞的死亡。CO₂的缺乏会诱导产生ROS, 进而导致加通多甲藻(*Peridinium gatunense*)藻细胞出现类似于动植物细胞凋亡的程序性死亡。

4 细胞毒素

目前已从米氏凯伦藻类分离得到2种细胞毒素: gymnocin-A和gymnocin-B。这2种毒素均为稀有的多环醚类化合物, 对小鼠淋巴瘤P388细胞(mouse lymphoid P388 cells)有细胞毒性。其中, gymnocin-A的半抑制浓度是 $1.3 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Tsukano等2005), gymnocin-B的半抑制浓度为 $1.47 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Satake等2005)。

gymnocin-A由14个相连的饱和醚环和2-甲基-2-丁烯的侧链构成(Tsukano等2005), 分子式为C₅₅H₈₀O₁₈, 在236 nm有紫外的吸收峰。其结构与肉毒毒素B(BTX-B)相似, 但毒性与BTX-B明显不同, 对鱼类只有很弱的毒性。它的细胞毒性与侧链 α 、 β -不饱和乙醛基以及分子的长度有关(Tsukano等2006)。有研究认为, gymnocin在水中的溶解度很低, 实验室条件下毒素难以到达鱼鳃组织, 因此

不容易引起鱼的死亡。赤潮期间,米氏凯伦藻能进入鱼鳃,因而gymnocin能直接接触鱼鳃导致鱼类大量死亡(Satake等2002)。

gymnocin-B 带有 15 个醚环,是迄今发现的最大的多环醚化合物(Chattopadhyay等2007),由6个甲基、19亚甲基、1个醛基、28个oxymethine、5个quaternary oxycarbons、1个olefinic methine、1个quaternary olefinic carbon和1个乙醛基组成,其中醚环是以反式并合。分子式为 $C_{62}H_{92}O_{20}$ 。在230 nm有紫外吸收峰。尽管它和gymnocin-A的结构有很大差异,但其细胞毒性非常相近(Satake等2005)。

5 结语

米氏凯伦藻是鱼毒性有害赤潮的重要原因种,其爆发可引起大量鱼类的死亡。虽然人们已就米氏凯伦藻的形态特征、次生代谢物等进行了许多研究,并取得了一定的进展,但对其产生的有毒物质的结构成分、影响因素和致毒机制还远未阐明,许多问题有待解决:(1)除了上述有毒物质外,米氏凯伦藻是否还会产生其他的有毒有害物质?(2)米氏凯伦藻导致鱼类死亡的机制如何?次生代谢物在导致鱼类死亡过程中是否存在协同作用?(3)环境因素如何影响米氏凯伦藻次生代谢物的生成?其机制如何?(4)产生次生代谢物的生态学意义是什么?是避免自身被摄食,还是藻竞争策略,抑或是其他?这些问题的研究和解决对于正确认识米氏凯伦藻赤潮危害、避免和减轻米氏凯伦藻引起赤潮所造成的损失具有重要意义。

参考文献

- 郭瑾, 杨维东, 刘洁生, 樊振华(2007). 温度、盐度和光照对球形棕囊藻生长和产毒的影响研究. 环境科学学报, 27 (8): 1341~1346
- 何家苑, 施之新, 张银华, 刘永定, 江天久, 尹伊伟, 齐雨藻(1999). 一种棕囊藻的形态特征与毒素分析. 海洋与湖沼, 30 (2): 172~179
- 刘洁生, 彭喜春, 杨维东(2006). 营养胁迫下球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa* Scherffel)的生长行为及溶血活性. 生态学报, 26 (3): 780~785
- 刘洁生, 彭喜春, 杨维东(2007). 球形棕囊藻溶血毒素对兔红细胞作用的AFM观察. 热带海洋学报, 26 (2): 55~58
- 吕颂辉, 黄凯旋(2007). 米氏凯伦藻在三种无机氮源的生长情况. 生态环境, 16 (5): 1337~1341
- 宋阳, 龙丽娟, 吴军(2004). 海洋前沟藻属甲藻的次生代谢产物及其生物活性. 中草药, 35 (10): 1194~1197
- 周成旭, 傅永静, 严小军(2007). 4种典型有害赤潮原因种的溶血特征研究. 生态毒理学报, 2 (1): 79~82
- Ahmed MS, Khan S, Arakawa O, Onoue Y (1995). Properties of hemagglutinins newly separated from toxic phytoplankton. Biochim Biophys Acta, 1243 (3): 509~512
- Bell MV, Dick JR, Pond DW (1997). Octadecapentaenoic acid in a Raphidophyte alga, *Heterosigma akashiwo*. Phytochemistry, 45 (2): 303~306
- Botes L, Smit AJ, Cook PA (2003). The potential threat of algal blooms to the abalone (*Haliotis midae*) mariculture industry situated around the South African coast. Harmful Algae, 2 (4): 247~259
- Chattopadhyay SK, Karmakar S, Biswas T, Majumdar KC, Rahaman H, Roy B (2007). Formation of medium-ring heterocycles by diene and enyne metathesis. Tetrahedron, 63: 3919~3952
- Garg S, Rose AL, Godrant A, Waite TD (2007). Iron uptake by the ichthyotoxic *Chattonella marina* (Raphidophyceae): impact of superoxide generation. J Phycol, 43: 978~991
- Gentien P, Lunven M, Lazure P, Youenou A, Crassous MP (2007). Motility and autotoxicity in *Karenia mikimotoi* (Dinophyceae). Phil Tran Royal Soc B-Biol Sci, 362: 1937~1946
- Igarashi T, Satake M, Yasumoto T (1999). Structures and partial stereochemical assignments for prymnesin-1 and prymnesin-2: potent hemolytic and ichthyotoxic glycosides isolated from the red tide alga *Prymnesium parvum*. J Am Chem Soc, 121 (37): 8499~8511
- Kim D, Nakamura A, Okamoto T, Evtodienko YV, Yaguzhinsky LS (2000). Mechanism of superoxide anion generation in the toxic red tide phytoplankton *Chattonella marina*: possible involvement of NAD(P)H oxidase. Biochim Biophys Acta, 1524 (2~3): 220~227
- Kim D, Nakamura A, Okamoto T, Komatsu N, Oda T, Ishimatsu A, Muramatsu T (1999). Toxic potential of the raphidophyte *Olisthodiscus luteus*: mediation by reactive oxygen species. J Plant Res, 21: 1017~1027
- Kim D, Oda T, Muramatsu T, Kim D, Matsuyama Y, Honjo T (2002). Possible factors responsible for the toxicity of *Cochlodinium polykrikoides*, a red tide phytoplankton. Comp Biochem Physiol C, 132 (4): 415~423
- Marshall JA, de Salas M, Oda T, Hallegraeff G (2005). Superoxide production by marine microalgae. Mar Biol, 147 (2): 533~540
- Mooney BD, Nichols PD, de Salas MF, Hallegraeff GM (2007). Lipid, fatty acid, and sterol composition of eight species of *Karenia* (Dinophyta): chemotaxonomy and putative lipid phycotoxins. J Phycol, 43 (1): 101~111
- Neely T, Campbell L (2006). A modified assay to determine hemolytic toxin variability among *Karenia* clones isolated

- from the Gulf of Mexico. *Harmful Algae*, 5 (5): 592~598
- Neely TE (2006). Differences in growth and toxicity of *Karenia*. Texas: A & M University
- Okamoto OK, Robertson DL, Fagan TF, Hastings JW, Colepicolo P (2001). Different regulatory mechanisms modulate the expression of a dinoflagellate iron-superoxide dismutase. *J Biol Chem*, 276 (23): 19989~19993
- Parrish CC, Bodennec G, Gentien P (1998). Haemolytic glycolipids from *Gymnodinium* species. *Phytochemistry*, 47 (5): 783~787
- Perelman A, Dubinsky Z, Martinez R (2006). Temperature dependence of superoxide dismutase activity in plankton. *J Exp Mar Biol Ecol*, 334 (2): 229~235
- Satake M, Shoji M, Oshima Y, Naoki H, Fujita T, Yasumoto T (2002). Gymnocin-A, a cytotoxic polyether from the notorious red tide dinoflagellate, *Gymnodinium mikimotoi*. *Tetrahedron Lett*, 43 (33): 5829~5832
- Satake M, Tanaka Y, Ishikura Y, Oshima Y, Naoki H, Yasumoto T (2005). Gymnocin-B with the largest contiguous polyether rings from the red tide dinoflagellate, *Karenia* (formerly *Gymnodinium mikimotoi*). *Tetrahedron Lett*, 46 (20): 3537~3540
- Sellem F, Pesando D, Bodennec G, El Abed A, Girard J P (2000). Toxic effects of *Gymnodinium* cf. *mikimotoi* unsaturated fatty acids to gametes and embryos of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Wat Res*, 34 (2): 550~556
- Sola F, Masoni A, Fossat B, Porthe-Nibelle J, Gentien P, Bodennec G (1999). Toxicity of fatty acid 18:5n3 from *Gymnodinium* cf. *mikimotoi*: I. Morphological and biochemical aspects on *Dicentrarchus labrax* Gills and intestine. *J Appl Toxicol*, 19 (4): 279~284
- Tsukano C, Ebine M, Sasaki M (2005). Convergent total synthesis of gymnocin-A and evaluation of synthetic analogues. *J Am Chem Soc*, 127 (12): 4326~4335
- Tsukano C, Sasaki M (2006). Structure-activity relationship studies of gymnocin-A. *Tetrahedron Lett*, 47 (38): 6803~ 6807
- Vardi A, Berman-Frank I, Rozenberg T, Hadas O, Kaplan A, Levine A (1999). Programmed cell death of the dinoflagellate *Peridinium gatunense* is mediated by CO₂ limitation and oxidative stress. *Curr Biol*, 9 (18): 1061~1064
- Wu JT, Chiang YR, Huang WY, Jane WN (2006). Cytotoxic effects of free fatty acids on phytoplankton algae and cyanobacteria. *Aquat Toxicol*, 80 (4): 338~345
- Yamasaki Y, Kim DI, Matsuyama Y, Oda T, Honjo T (2004). Production of superoxide anion and hydrogen peroxide by the red tide dinoflagellate *Karenia mikimotoi*. *J Biosci Bioeng*, 97 (3): 212~215