

细菌在浮游植物生长过程中的作用*

ROLE OF BACTERIA IN THE GROWTH PROCESS OF PHYTOPLANKTON

李福东 张 诚 邹景忠

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

水生细菌与浮游植物有着密切的关系。一方面,它们在吸收浮游植物产生的有机物质的同时,为浮游植物的生长提供了必要的有机营养和生长因子,调节了浮游植物的生长环境;另一方面,细菌也可以抑制藻细胞的生长,甚至裂解藻细胞。可见,在浮游植物水花的发生、发展、衰落和消亡过程中,细菌始终起着重要的作用。研究细菌与浮游植物的关系,不仅可以了解微生物在生态系统物质循环和能量代谢的过程的作用,还可以探索赤潮形成的机制,为进行生物防治提供可靠的理论依据。关于细菌和藻类之间的关系, Jones (1982)^[1]曾做过全面的综述。十几年来,随着水生微生物生态学的发展和各种新方法、新手段的应用,藻菌关系在许多方面得到了更深入的研究。本文在这些工作的基础上,对细菌在藻类生长过程中的作用进行了综述。

1 细菌和浮游植物的营养关系

细菌广泛存在于水体和沉积物中,是生物地球化

学循环中的一个重要环节。它们是浮游植物无机氮的主要提供者。在海洋的深层,硝化细菌可以把 $\text{NH}_4\text{-N}$ 转化成 $\text{NO}_3\text{-N}$, 为浮游植物的新生产力提供无机氮。在混合层中,细菌的氨化作用产生的 $\text{NH}_4\text{-N}$ 是再生生产力的重要来源。细菌也是无机磷的重要提供者。有些细菌的细胞表面(或周质空间中)存在着高水平的 5'-核苷酶,这些酶可以迅速地水解 ATP 类的 5'-核苷酸并还原产生无机磷^[2],而且产生的无机磷与浮游植物的无机磷的吸收紧密相关。除此之外,细菌也在其他元素的生物地球化学循环中起着重要的作用。例如,细菌可以把三价铁还原成溶解度较高的二价铁,为浮游植物提供生长所需的铁元素^[3]。但是,细菌的上述作用是相对的,并非一成不变。在特定的环境中,它们也会成为浮游植物无机营养的竞争者。

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 2941 号。

国家自然科学基金资助项目,编号 3950028。

收稿日期:1996 年 4 月 22 日

许多研究表明,细菌可以大量吸收 $\text{NH}_4\text{-N}$,吸收的程度取决于细菌的营养状态、物质的含氮比以及细菌的生长速率或净生长效率等因素^[4]。Suttle 等^[5]对浮游植物和细菌的 $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸收进行了研究,发现 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的浓度高,有利于浮游植物的吸收,低则利于细菌的吸收。细菌也可以吸收无机磷^[2]。实验表明,具有 5'-核苷酶的细菌,在分解有机磷产生无机磷的同时,也进行着无机磷的吸收,水体中若无机磷丰富,则吸收少(占其分解产生的无机磷的 10~15%);但若水体中无机磷缺乏,其吸收的无机磷可达其分解产生的无机磷的 50%。因此,一般来说,细菌是无机营养矿化作用的主要作用者,但在特定条件下,细菌可能会通过对营养的竞争来抑制浮游生物的生长。

2 浮游植物微环境中的细菌

藻细胞微环境(Phycosphere)的概念,是由 Bell 和 Mitchell^[6]首先提出的,指藻细胞周围存在的微环境,类似于陆地植物的根际。由于藻类的光合作用和迅速生长,这个区域具有高溶解氧、高 pH、低 CO_2 的特征,另外还含有藻细胞分泌的烃、脂、肽、维生素、有机磷酸盐等有机物质。这些物质有利于细菌的生长,是其天然的培养基。因此,在藻细胞微环境中常聚集大量的细菌。一些学者^[7,8]对微环境的存在进行了研究,表明在水体混合较差的环境中,如温跃层,浮游植物细胞的周围可以形成微环境,而且藻细胞的大小对其微环境的形成有影响,单个藻细胞只有长度或宽度大于 $20\mu\text{m}$ 时,才能产生微环境;较小的藻细胞聚合成大聚体后,也可形成微环境。

藻细胞环境中的低浓度的 CO_2 对其生长存在着一定程度的影响。根据 Ricesell 的分析^[9],在上升流区等营养较丰富的海区,尽管无机碳的浓度高出 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4\text{-P}$ 2~3 个数量级,但 CO_2 所占的比例小于 1%,而很多硅藻只能利用 CO_2 进行生长。虽然其他形式的溶解无机碳,如 HCO_3^- , H_2CO_3 可以向 CO_2 转换,但在藻细胞微环境范围内以 CO_2 形式扩散到藻细胞表面的无机碳占了全部无机碳的 95~98%,而且, $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4\text{-P}$ 的扩散速率高于 CO_2 ,这意味着即使大环境中 CO_2 不缺乏,在藻细胞微环境中仍会出现 CO_2 的缺乏。这种缺乏虽然对总生物量的限制不大,但在一定程度上抑制了藻细胞的生长率,因此,生活在藻细胞微环境内的细菌可以减轻 CO_2 的限制作用。

藻细胞微环境中的高溶解氧是藻类生长的另一个限制因素^[10]。Rubisco 酶(核糖二磷酸羧化酶/氧化

酶)是藻细胞中一种既可进行无机碳固定(光合作用)又可进行光呼吸的双功能酶, O_2 和 CO_2 都可与这种酶结合且存在竞争作用,过量的溶解氧会抑制藻细胞的光合作用,使其转向光呼吸,从而阻碍细胞的生长。细菌的存在消耗了氧气,可以为藻细胞的生长提供一个还原性较强的环境。

细菌和浮游植物的这种互惠互利的关系,有时可达到相当专一的程度,有人甚至称之为“外共生”^[11]。例如固氮蓝藻和其附生细菌间就存在着这种关系^[12]。在蓝藻细胞的周围存在着两类细菌,第一类是聚集在营养细胞周围的细菌,这些细菌在利用蓝藻分泌的有机物质的同时,为蓝藻提供进行光合作用所必须的 CO_2 、无机营养和一些生长因子;第二类是存在于异形细胞周围,形态与第一类不同的细菌,具有以下特征:(1)对寄主的固氮有促进作用;(2)与异形细胞有很强的亲和性;(3)很多 L-氨基酸都可以使其产生正的趋化反应。这些细菌依靠趋化作用附着在异形细胞和营养细胞的连接处,消耗氧气提供还原性的环境,以维持固氮酶的活性,保证了蓝藻的正常固氮作用。这种密切关系在其他浮游植物中也存在。日本学者发现^[13],星杆藻 *Asterionella glacialis* 可以分泌出一种低分子量的氨基酸类物质,可专一地吸引一种假单胞菌,而且这种细菌在利用星杆藻的分泌产物的同时,可以产生一种糖蛋白类物质,刺激其生长。因此,藻细胞与其微环境内的细菌的关系,并非是单方面的受惠,而是互惠互利的关系。细菌在利用藻细胞外分泌的有机物质的同时,相应地产生 CO_2 、无机营养、生长因子,消耗了氧气,从而改善了藻细胞微环境,促进了藻细胞的生长,提高了初级生产力。

3 藻细胞中内生的细菌

细菌可以内生于不同种类的淡水和海洋藻类细胞中,它们既可存在于藻细胞核中^[14],也可以存在于细胞质中^[15],甚至在细胞器^[16]中也有发现。其数量因不同的细菌及不同的藻类而有所不同。对于这种共存维持的机制,Silva^[17]认为,内生细菌和藻细胞之间保持平衡的生长率维持了二者之间的共存。细菌在藻细胞内生存的意义目前还不太清楚,但 Silva 和 Franca^[18]发现甲藻染色体中的 DNA 纤丝似乎通过围绕于细菌周围的电子透明区域与细菌表面相联系,这意味着它们之间可能存在着遗传信息的交换;他们对内生细菌在藻细胞生长繁殖过程中的变化也进行了详细的研究,观察到在甲藻的指数生长期内细菌主要限于细胞核内,进入稳定期后,核内的细菌更加丰富,

生长似不受外界环境的影响,并可以通过类似于“反胞饮”的过程,离开细胞核在细胞质中形成一批由核被膜包围的细菌。然后,其中一些在细胞质中被消化掉,另外一些在细胞分裂时,进入周围的培养基中。研究藻内生细菌的现实意义在于,细菌在一些有毒赤潮藻类的毒素产生中起着一定的作用。Silva^[17]提出假说,认为内生细菌是甲藻产生毒素的一个原因。十几年来研究充分证明了他的观点。Silva和Franka^[15]、Ogata等^[18]在研究产生麻痹性贝毒(PSP)的塔马亚历山大藻(*Protogonyolax tamarensis*)时发现,虽然不同的*P. tamarensis*亚株来源于相同的亲细胞,且培养在相同的条件下,但它们的产毒量却有较大差别(最大相差约20倍)。因此,他们认为毒素的产生并不是由*P. tamarensis*的遗传物质所决定的,而是由生存在其细胞内的细菌产生的。经过进一步的研究,他们还发现,在不同的甲藻种类,甚至是同一种甲藻中可以分离出不同类型的产毒素细菌;不同菌株可以产生相同的毒素;同一种细菌生长在相同的条件下,所产生的毒素量也有所不同,而且这些细菌在营养较差的培养基或自然海水中所产生的毒性远大于其在营养丰富的培养基中所产生的。尽管人们对藻内生的细菌有了初步的了解,但目前还对很多现象的解释不够清楚,如共存的方式、维持的机制、内生的意义、产毒的意义等等,这些都需要进一步研究。

4 细菌对浮游植物的抑制和裂解作用

Jones^[1]对于水环境中抑制和裂解藻类的细菌曾做过很好的综述。近年来随着赤潮研究的进展,这方面的工作也得到了较大的发展。研究表明,无论在海洋还是淡水环境中这类细菌都广泛地存在着,而且有一定的数量。这些细菌作用的对象广泛,既有蓝藻^[19],也有甲藻^[20]和硅藻^[20,21]。作用的途径有的通过分泌活性物质如羟氨^[1],蛋白类物质^[1],抗甲藻因子^[22],吩嗪类色素物质^[23]等抑制藻类生长;有的则靠细胞表面的裂解酶^[20]。作用的机制也种类繁多,或作用于生理过程如阻断呼吸链^[23],抑制细胞壁合成^[1],或靠溶解酶裂解细胞^[20]。这些细菌专一性都不太强,但有些细菌具有很强的裂解能力,如*Cytophaga* sp.可以裂解5种针胞藻(*Raphidophyceae*)和4种硅藻,可以在1d内从 2.20×10^2 生长至 10^6 CFU/ml,在2~4d内使藻细胞迅速死光^[20]。*Pseudomonas stutzeri*的培养液也具有很高的杀藻能力(最低致死浓度0.5%)^[24]。

一些研究者对细菌杀藻的动力学过程进行了研

究。对*Myxococcal*的研究表明,其对蓝藻的捕食具有阈密度($10^5 \sim 10^6$ CFU/ml)^[19]。在这个密度之上,它可以大量地捕食蓝藻从而使蓝藻水花迅速消亡;低于这个密度,则依靠浮游植物的外分泌物以及少量的裂解浮游植物生存,但是要繁殖到阈值密度,则需要水体中有足够的无机营养。对于海洋中可捕食甲藻的*Cytophaga* sp.的研究也表明细菌大量的裂解浮游植物需要有阈密度,不同的是,这种细菌在0.1μm滤膜过滤的海水中可以增殖至阈密度^[20]。

但是,尽管如此,由于环境中存在着复杂的生物因子和非生物因子,实验室中的研究结果在自然环境中并不完全适用。Aubert^[1]对于水环境中抗藻性物质的现实意义表示怀疑,认为这些物质浓度太低,作用不大。淡水环境很少存在*Myxococcal*所需的无机盐浓度,而在海洋中广泛存在的捕食细菌的纤毛虫、鞭毛虫、裂解细菌的病毒也不会使*Cytophaga* sp.自由的生长至阈密度。实验研究还表明,在基本培养基中加入含氮的有机化合物可以抑制*Sparospora* sp.的噬藻斑的形成^[21]。这意味着,水环境中存在某些有机物质可能会抑制细菌的杀藻作用。Chrost等^[25]对浮游植物水花发生至消亡过程中细菌胞外酶的变化进行了研究,发现在浮游植物生长的初始阶段,藻细胞可分泌出多种多样的低分子量的初级代谢产物和光合作用产物,其中包括一些易利用物质,很容易为细菌所吸收,从而支持了细菌的生长和代谢。这些易利用物质可以抑制一些细菌的胞外酶活性,并阻遏其合成(终产物抑制和分解产物抑制);而在浮游植物的衰败阶段,藻细胞释放出高分子量的次级代谢产物并且通过自溶和病毒溶解释放出大量的多聚溶解有机质,如多糖、蛋白质、脂、核酸等,而小分子的易利用物质的浓度则降至很低,从而解抑制并诱导了细菌胞外酶的合成,这些酶不仅可以分解大分子有机物,在藻细胞的裂解中也可能有着重要的作用^[26]。Chrost等^[25]还对胞外酶的合成机制进行了探讨,认为微生物是通过组成性、低速率分泌胞外酶来完成这个过程的,即如果有底物的存在,那么低分子量产物积累至一定水平后就可进入细胞作为诱导剂;若环境条件抑制了某一种胞外酶的活性(如易利用物质的存在,不合适的pH值, H₂S的存在(对某些酶来说)、缺乏Mg²⁺, Zn²⁺的激活等等),由于没有分解产物,就不会出现诱导合成。可见,这些过程很类似于操纵子的诱导型调控和阻遏性调控机制。

从上述讨论可以看出,细菌不仅可以抑制也可以裂解浮游植物,在浮游植物水花的衰败和消亡中起着

重要的作用,但这种作用是受具体的环境条件制约的,而目前对于这些具体的环境机制尚不够清楚。

5 结语

很明显,细菌与浮游植物间的这种关系是受着复杂的环境因素制约的。生物因素(如原生动物、病毒等)和非生物因素(如营养物质,水体混合情况等)都可以在一定程度上影响细菌与浮游植物的关系。细菌既可以促进浮游植物生长,也可以抑制甚至裂解浮游植物,这既因不同的细菌种类,不同的浮游植物而不同,也因具体的环境差别而有区别。具体研究这种关系及其发生的环境,对于了解水环境中的营养结构以及物质能量流动的规律具有重要意义;同时,我们还可以看出,在水花发生及其演替的过程中,细菌的作用、种群组成也不是一成不变的,不同的水花时期,不同的演替阶段都具有不同的菌相,不同的细菌作用。如在长崎裸甲藻 *Gymnodinium nagasakiense* 水花的开始阶段,菌群对 *G. nagasakiense* 的生长有促进作用;而在水花的消亡时期,则表现为抑制作用^[27]。在浮游植物水花特别是赤潮发生的过程中,研究这种关系必然有利于对其发生机制的了解;而且研究赤潮发生过程的细菌的作用,不仅可以揭开一部分甲藻产毒的机制,还为赤潮的防治研究提供科学依据。细菌对赤潮生物的裂解,效果好,又不会引起环境的污染,势必成为赤潮生物防治的一个重要的手段。

参考文献

- [1] Jones, D. A. K., 1982. In: *Microbial Interaction and Communities*. Vol. I. A. T. Bull and J. H. Slater eds., Academic Press Inc., London, 189-248.
- [2] Ammerman, J. W., and F. Azam, 1985. *Science* 227: 1338-1340.
- [3] Atlas, Ronald M. and Richard Bartha, 1991. *Microbial Ecology*. The Benjamin/cummings Publishing Company, Inc., 314.
- [4] Gilbert, P. M., 1993. *Marine Microbial Food Webs*. 7 (1): 53-67.
- [5] Suttle C. A., J. A. Fuhrman, and D. G. Capone, 1990. *Limnol. Oceanogr.* 35: 424-433.
- [6] Bell, W. and R. Mitchell, 1972. *The Biological Bulletin-Marine Biological Laboratory* 143: 265-277.
- [7] Richardson, L. L., and K. D. Stolzenbach, 1995. *FEMS Microbiology Ecology* 15: 185-192.
- [8] Mitchell, J. G., Akira Okubo & J. A. Fuhrman, 1985. *Nature* 316: 58-59.
- [9] Riebesell, U., D. A. Wolf-Gladrow, and V. Smetacek, 1993. *Nature* 361: 249-251.
- [10] Mouget Jean-Luc *et al.*, 1995. *FEMS Microbiology Ecology* 18: 35-44.
- [11] Paerl, H. W., 1992. In: *Algae and symbioses*. Wor-eisser ed.. Printed in Hong Kong by Dah Hua Printing Press Co. Ltd, 543.
- [12] Paerl, H. W., 1985. *Science* 227: 647-649.
- [13] Riquelme, C. E., and Y. Ishida., 1989. *Mem. Coll. Agric. Kyoto. Univ.* 4: 1-60.
- [14] Kodama, M., 1990. In: *Toxic Marine Phytoplankton*, Edna Granell *et al.* eds., Elsevier, 52-61.
- [15] Silva, E. S., and S. Franca, 1985. *Protistologica*, 21: 429-446.
- [16] Wilcox, L. W., 1986. *Protoplasma* 135: 71-79.
- [17] Silva, E. S., 1982. In: *Marine Algae in Pharmaceutical Science*, vol. II (Hoppe, H. A. and Levering, T., eds.), W. de Gruyter & Co., Berlin, New York, 269-288.
- [18] Ogata, T. *et al.*, 1990. In: *Toxic Marine Phytoplankton*, Edna Granell *et al.*, eds. Elsevier, 311-315.
- [19] Fraleigh, P. C., and J. C. Burnham, 1988. *Limnol. Oceanogr.* 33(3): 476-483.
- [20] Imai, I., Y. Ishida, and Y. Hata, 1993. *Marine Biology* 116: 527-532.
- [21] Sakata, T., and H. Yasumoto, 1991. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57(11):
- [22] Ishio, S., T. Nishimoto, and H. Nakagawa, 1987. *Nippon Suisan Gakkaishi* 53: 773. 2 139-2 143.
- [23] Dakhama, A., J. dela Noue, and M. C. Lavoie, 1993. *J. Appl. Phycol.* 5: 297-306.
- [24] Hayashida, S. *et al.*, 1991. *Agric. Biol. Chem.* 55(3): 787-790.
- [25] Chrost, M. *et al.*, 1991. *Microbial enzymes in aquatic environments*. Springer-Verlag, New York.
- [26] Yamamoto Y. *et al.*, 1993. *Jpn. J. Phycol.* (Sorui) 41: 215-220.
- [27] Fukarni K. *et al.*, 1991. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58 (12): 2 321-2 326.