

# 孔石莼与 2 种海洋微藻的胞外滤液交叉培养研究

张培玉<sup>1,2</sup>, 蔡恒江<sup>2</sup>, 肖 慧<sup>2</sup>, 于 娟<sup>2</sup>, 冯 蕾<sup>2</sup>, 唐学玺<sup>2</sup>

(1. 青岛大学 环境科学与工程系, 山东 青岛 266071; 2. 中国海洋大学 海洋生态学研究室, 山东 青岛 266003)

**摘要:** 在实验室条件下, 采用海洋大型海藻石莼(*Ulva pertusa* Kjellm.) 和海洋微藻青岛大扁藻(*Platymonas helgolandica* Kylin var. *tsingtaoensis*)、亚历山大藻(*Alexandrium tamarense* (Lebour) Balech) 的滤液做了交叉培养研究, 初步探索藻间的克生机制。试验结果表明, 不同温度处理下, 2 种微藻滤液对石莼生长的影响均有显著的差异。不同温度处理的石莼滤液对青岛大扁藻生长的影响差异显著, 而对亚历山大藻生长的影响差异不显著。可以推测: 石莼对亚历山大藻的抑制作用很可能是通过细胞的直接接触来完成的; 而石莼对青岛大扁藻的抑制作用和两种微藻对石莼的抑制作用主要是通过分泌胞外产物(Extracellular products, ECP) 来实现的, 至于其它的方式和途径有待于进一步研究。

**关键词:** 石莼(*Ulva pertusa* Kjellm.); 青岛大扁藻(*Platymonas helgolandica* Kylin var. *tsingtaoensis*); 亚历山大藻(*Alexandrium tamarense* (Lebour) Balech); 胞外产物; 竞争

中图分类号: S968.4

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2006)05-0001-04

众所周知, 生物群落的平衡受到与其有关的各种物理、化学及生物因素的影响。种群之间的相互作用对群落的平衡有一定的调节作用。通过藻类胞外活性物质的相互影响, 可以直接实现藻类与其它生物类群之间、藻类不同种群之间的相互作用, 从而影响藻类群落的组成、演替和平衡<sup>[1-3]</sup>。Fogg 和 Helebust<sup>[4]</sup> 首次研究发现, 海洋藻类在生长过程中会不断向周围环境中释放多种代谢产物, 如碳水化合物、氨基酸、酶、脂类、维生素、有机磷酸、毒素、挥发性物质以及抑制和促进因子等。这些产物统称为胞外产物(Extracellular products, ECP), 随着藻类的生长, 藻类会分泌 ECP 来改变周围的环境, 从而影响其它种群的生长。大量研究表明, 石莼微藻种群之间会发生克生作用<sup>[5-7]</sup>。作者利用滤液做交叉培养试验, 对石莼微藻之间克生作用的方式和途径进行了初步的研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料处理

试验所使用的材料系采自青岛太平角的孔石莼(*Ulva pertusa* Kjellm.), 材料采回后立即用天然海水洗净, 用打孔器打成直径为 1.3 cm 的圆片, 在室温 3 000 lx 光照下预培养 7 d。

青岛大扁藻(*Platymonas helgolandica* Kylin var. *tsingtaoensis*) 和亚历山大藻(*Alexandrium tamarense* (Lebour) Balech) 由中国海洋大学藻种室提供。

培养容器为 300 mL 三角瓶。三角瓶洗净后依次用 1 mol/L HCl 和 90% 乙醇洗瓶, 然后用相应浓度 f/2 培养基预平衡后备用。

### 1.2 培养方法和条件

在预试验的基础上, 石莼的初始接种质量为 0.05 g; 青岛大扁藻和亚历山大藻在指数生长期接种, 接种的初始密度为  $1 \times 10^4$  个/mL, 分别接种到 150 mL f/2 培养液中。培养温度  $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ , 光照强度 3 000 lx, 光暗周期为 12 h: 12 h。

### 1.3 石莼与微藻间的滤液交叉培养

取培养 12 d 的石莼和微藻培养液, 经孔径为 0.45  $\mu\text{m}$  的玻璃纤维素滤膜过滤后备用。

收稿日期: 2004-11-08; 修回日期: 2005-06-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30270258); 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金资助项目(03BS120)

作者简介: 张培玉(1964), 男, 青岛胶南人, 博士, 副教授, 主要从事环境生物学研究, E-mail: peiyu\_zhang@163.com

取石莼和 2 种微藻的滤液, 将其平均分为 4 组: A, B, C 和 D 组。取 A 组的滤液 150 mL 加入 300 mL 的三角瓶中备用; B 组的滤液经 60℃ 水浴 30 min 后, 取 150 mL 加入 300 mL 的三角瓶中备用; C 组的滤液经 80℃ 水浴 30 min 后, 取 150 mL 加入 300 mL 的三角瓶中备用; D 组的滤液经煮沸 30 min 后, 取 150 mL 加入 300 mL 的三角瓶中备用。

取处理过的 A, B, C 和 D 组石莼的滤液, 分别接种处于指数生长期的青岛大扁藻和亚历山大藻, 使接种的初始密度为  $1 \times 10^4$  个/mL。取处理过的 A, B, C 和 D 组青岛大扁藻和亚历山大藻滤液, 分别接种预培养的石莼 0.05 g。每个样品做 4 个平行样, 按 1.2 的条件进行培养。

#### 1.4 石莼质量与细胞密度的测定

用吸水纸小心地把石莼表面的水吸干后称质量。微藻用 Lugol 碘液固定, 采用平板计数法, 在 Olympus 双筒显微镜下, 进行细胞计数。

#### 1.5 数据处理

应用 SPSS10.0 软件进行统计分析。

## 2 结果

### 2.1 不同温度处理条件下 2 种微藻的滤液对石莼生长的影响

#### 2.1.1 青岛大扁藻的滤液对石莼生长的影响

图 1 为不同温度处理条件下青岛大扁藻滤液对石莼生长的影响。B, C 和 D 处理组石莼的生长均好于 A 处理组(对照组)。D 处理组在第 9 天时与 A 处理组的差异达到显著水平 ( $P < 0.05$ ), 第 12 天时差异达到极显著水平 ( $P < 0.01$ )。B 和 C 两处理组在第 12 天时与 A 处理组的差异达到显著水平 ( $P < 0.05$ )。

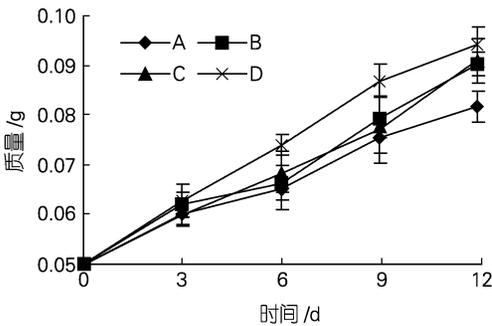


图 1 不同温度处理的青岛大扁藻的滤液对石莼生长的影响  
Fig. 1 Effects of different filtrates of *Platymonas helgolandica* under different temperatures on the growth of *Vlvva pertusa*

### 2.1.2 亚历山大藻的滤液对石莼生长的影响

从图 2 可以看出不同温度处理条件下亚历山大藻的滤液对石莼生长的影响。第 3 天时 A 处理组石莼的生长与 B, C 和 D 3 个处理组相比, 已经受到了极显著的抑制作用 ( $P < 0.01$ ), 随着培养时间的延长, 石莼生长的抑制作用更加明显。B, C 和 D 3 个处理组石莼的生长均无明显差异。

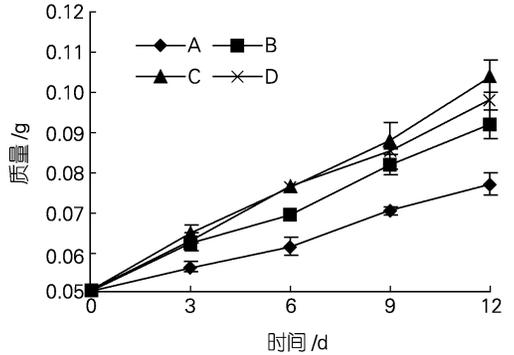


图 2 不同温度处理的亚历山大藻的滤液对石莼生长的影响  
Fig. 2 Effects of different filtrates of *Alexandrium tamarense* under different temperatures on the growth of *Vlvva pertusa*

### 2.2 不同温度处理条件下石莼的滤液对 2 种微藻生长的影响

#### 2.2.1 石莼的滤液对青岛大扁藻生长的影响

不同温度处理条件下石莼的滤液对青岛大扁藻生长有显著的影响(图 3)。A 处理组的青岛大扁藻生长得最差, 而 D 处理组的青岛大扁藻生长得最好。在青岛大扁藻生长到第 6 天时, C 和 D 两处理组青岛大扁藻的生长与 A 处理组青岛大扁藻的生长相比有了明显的促进作用 ( $P < 0.05$ )。9~12 d 时 D 处理组与 A 处理组间的差异已经达到极显著水平 ( $P < 0.01$ )。

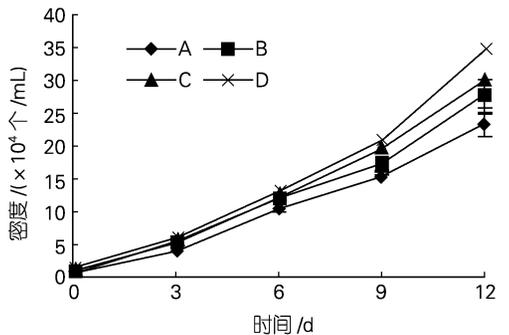


图 3 不同温度处理的石莼的滤液对青岛大扁藻生长的影响  
Fig. 3 Effects of different filtrates of *Vlvva pertusa* under different temperatures on the growth of *Platymonas helgolandica*

### 2.2.2 石莼的滤液对亚历山大藻生长的影响

图4为不同温度处理条件下石莼的滤液对亚历山大藻生长的影响。不同温度处理条件下石莼滤液对亚历山大藻生长的影响非常小, A, B, C和D4个处理组亚历山大藻的生长均无显著差异。

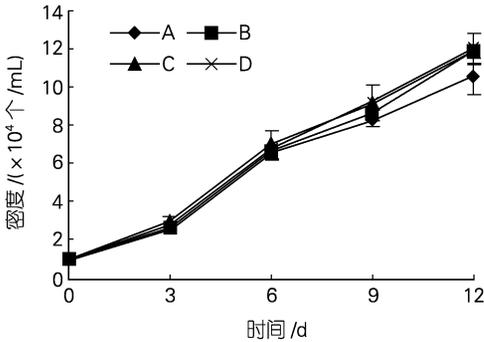


图4 不同温度处理的石莼的滤液对亚历山大藻生长的影响  
Fig. 4 Effects of different filtrates of *Vlva pertusa* under different temperatures on the growth of *Alexandrium tamarense*

## 3 结果分析

### 3.1 2种微藻滤液在不同温度处理条件下对石莼生长影响的差异

从试验结果可以发现,石莼在经不同温度处理的微藻滤液中的生长表现出了差异性。滤液经处理后的石莼生长要比未处理过的长得好,其机制可推测为:青岛大扁藻和亚历山大藻2种微藻均分泌ECP来抑制石莼的生长,且ECP对热是敏感的,但此种热敏感的ECP的化学成分和作用机理还有待于进一步研究。

从生长曲线的斜率差异可以看出在不同温度处理条件下,石莼在亚历山大藻滤液中生长的差异要大于在青岛大扁藻滤液中生长的差异。这种差异性的主要原因为:(1)亚历山大藻为赤潮藻,它可以分泌赤潮毒素来影响石莼的生长<sup>[8,9]</sup>,而不同温度处理可以影响赤潮毒素对石莼的作用。(2)试验中2种微藻滤液中的微生物可能不同,因而对温度的敏感性也不同,从而产生了对石莼生长影响的差异。(3)试验中所用2种微藻的滤液由于无法控制营养盐含量,2种微藻滤液中的营养盐含量可能不一样,可能造成了对石莼生长影响差异的不同。

### 3.2 石莼滤液在不同温度处理条件下对2种微藻生长影响的差异

2种微藻在不同温度处理条件下石莼滤液中的

生长情况有所不同。青岛大扁藻在不同温度处理条件下的石莼滤液中生长有明显差异,而亚历山大藻在不同温度处理条件下的石莼滤液中生长差异不显著。出现这种现象的原因可以推测为石莼分泌的热敏感的ECP和石莼滤液中的微生物对2种微藻生长的影响有所不同所致或两种微藻对石莼ECP的敏感性不一样。进一步的作用机制仍需更深入地研究。

### 3.3 石莼与2种微藻之间克生作用的方式和途径

种群之间克生作用和相互竞争一般通过2种方式和途径进行。其一是细胞的直接接触抑制,其二是通过分泌ECP来完成对其它种群的抑制作用。Uchida等<sup>[10]</sup>在研究*Heterocapsa circularisquama*和*Gymnodinium mikimotoi*之间的竞争作用时指出,*H. circularisquama*对*G. mikimotoi*的抑制作用主要是通过细胞的直接接触完成的,而*G. mikimotoi*对*H. circularisquama*的抑制作用既可以通过细胞的直接接触又可以通过分泌ECP来完成。对*H. akashiwo*的深入研究<sup>[11]</sup>表明,*H. akashiwo*对其它种群的抑制作用采取的是细胞的直接接触抑制,而且接触抑制作用的部位位于*H. akashiwo*细胞的细胞表面。

本试验的结果可以认为石莼对亚历山大藻的克生作用很可能是通过细胞的直接接触来完成的,而石莼对青岛大扁藻的克生作用和2种微藻对石莼的克生作用主要是通过分泌ECP来实现的。

由于藻类分泌胞外产物的复杂性和作用的不确定性,藻类间克生作用的方式和途径有待于进一步的研究探讨。

#### 参考文献:

- [1] 刘世枚,黎尚豪.两种蓝藻种群间的相互作用[J].植物学报,1991,33(2):110-117.
- [2] Bull A L, Slater J H. Microbial Interactions and Communities [M]. Vol. I. London: Academic Press, 1982. 567.
- [3] Vance B D P. Liberation of extracellular nitrogen by two nitrogen fixing blue green algae [J]. Nature, 1963, 200: 1 020-1 021.
- [4] Fogg G E. Extracellular products of algae in freshwater [J]. Ergebn der Limnol, 1971, 5: 1-25.
- [5] Fong P, Zedler J B, Donohoe R M. Nitrogen versus phosphorous limitation of algal biomass in shallow coastal lagoons [J]. Limnology and Oceanography, 1993, 38: 906-923.
- [6] Fong P, Foin T C, Zedler J B. A simulation model of

- lagoon algal based on nitrogen competition and internal storage [ J ]. **Ecological Monographs**, 1994, 64: 225-247.
- [ 7 ] 南春荣, 董双林, 金秋. 不同磷浓度及脉冲方式下孔石莼与亚心形扁藻间竞争的实验研究[ J ]. 青岛海洋大学学报, 2003, 33( 1 ): 29-35.
- [ 8 ] Zhou M J, Li J, Luckas B, *et al.* A recent shellfish toxin investigation in China [ J ]. **Marine Pollution Bulletin**, 1999, 39: 331-334.
- [ 9 ] 颜天, 周明江, 钱培元. 环境因子对塔玛亚历山大藻生长的综合影响[ J ]. 海洋学报, 2002, 24( 2 ): 114-120.
- [ 10 ] Uchida T, Satorutoda Y, Matsuyama M, *et al.* Interactions between the red tide dinoflagellates *Heterocapsa circularisquama* and *Gymnodinium mikimotoi* in laboratory [ J ]. **J Exp Mar Biol Ecol**, 1999, 241: 285-299.
- [ 11 ] 颜天, 周名江, 傅萌, 等. 赤潮异弯藻毒性及毒性来源的初步研究[ J ]. 海洋与湖沼, 2003, 34( 1 ): 50-55.

## The exploration of cross test between *Ulva pertusa* Kjellm. filtrates and the two species of micro algae filtrates

ZHANG Peiyu<sup>1, 2</sup>, CAI Heng-jiang<sup>2</sup>, XIAO Hui<sup>2</sup>, YU Juan<sup>2</sup>, FENG Lei<sup>2</sup>, TANG Xuexi<sup>2</sup>  
( 1. Department of Environmental Science and Engineering, Qingdao University, Qingdao 266071, China;  
2. Marine Ecology Laboratory, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

**Received:** Nov. , 8, 2004

**Key words** *Ulva pertusa* Kjellm. *Platymonas helgolandica* Kylin var. *tsingtaoensis*; *Alexandrium tamarense* ( Lebour ) Balech; ECP; competition

**Abstract:** The filtrates of *Ulva pertusa* Kjellm. , *Platymonas helgolandica* Kylin var. *tsingtaoensis* and *Alexandrium tamarense* ( Lebour ) Balech were researched using cross test under lab conditions and the preliminary studies on mechanism of competitive growth of interspecies between marine macro algae and micro algae. The results demonstrated that the filtrates of the two species of micro algae dealt with different temperatures have notable effects on the growth of *U. pertusa* Kjellm. , and the filtrates of *U. pertusa* Kjellm dealt with different temperatures showed significant effects on the growth of *P. helgolandica* Kylin var. *tsingtaoensis*, but showed unnoticed effects on the growth of *A. tamarense* ( Lebour ) Balech. Therefore, that *U. pertusa* Kjellm. inhibits *P. helgolandica* Kglin var. *tsingtaoensis* from growing was finished by cell s contactation, while that *U. pertusa* Kjellm. inhibits *P. helgolandica* Kylin var *tsingtaoensis* from growing and that the two species of micro algae inhibit *U. pertusa* Kjellm. from growing were realized by ECP. and the other ways and functions of interaction between macro algae and micro algae need being studied further.

( 本文编辑: 张培新 )