

DOI: 10.3724/SP.J.1035.2010.00001

环境因子对金藻生长和噬藻速率的影响

郭胜娟^{1,2} 甘南琴¹ 郑凌凌¹ 宋立荣¹

(1. 中国科学院水生生物研究所, 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072;
2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 在微囊藻的大量培养过程中分离到一株能够快速吞噬微囊藻的鞭毛虫-金藻 *Poterioochromonas* sp., 其具有混和营养的特点。研究以人工培养的铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa* FACHB469)为饵料, 研究了起始饵料浓度、光强、温度和 pH 等环境因子对 *Poterioochromonas* sp. 生长和吞噬饵料速率的影响。结果显示: 当无饵料时, 金藻的自生长与光强和温度相关, 而与 pH 无相关性。喂食饵料能显著促进金藻的生长, 其吞噬速率和生长速率与起始饵料浓度相关性强, 可分别用 Michaelis-Menten 方程和 Monod 方程拟合。提供相同量的饵料时, 金藻的生长与光强相关性显著, 而与温度和 pH 的相关性不显著; 其吞噬速率与 pH 呈现负相关关系, 而与光强和温度相关性不显著。除了在不同 pH 下的生长外, 混合营养时金藻的生长速率与吞噬速率之间存在显著的正相关关系。实验表明适于 *Poterioochromonas* sp. 生存并吞噬微囊藻的环境条件较广, 这也是进一步探索利用 *Poterioochromonas* sp. 控制微囊藻水华的前提。

关键词: 金藻; 铜绿微囊藻; 环境因子; 生长速率; 吞噬速率

中图分类号: Q142 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2010)01-0001-08

混合营养型浮游生物是指既能通过光合作用合成有机物, 又能通过摄食细菌或者其他微小生物来满足其生长和繁殖所需的浮游生物类群^[1-3]。它们包括各种单细胞藻类(大多数种类具有鞭毛, 能够自由游动, 又称为鞭毛虫)、变形虫以及纤毛虫等^[4,5]。由于它们既可以是生产者又可以是消费者, 与异养原生动物相比, 混养浮游生物更能有效地在微食物环与后生动物之间进行营养衔接, 在食物网营养动力学中发挥着重要作用^[6]。

混养鞭毛虫吞噬细菌的行为的研究屡见报道^[7-9], 而对其他浮游植物的吞噬行为的相关研究则比较薄弱^[10]。目前报道的食藻鞭毛虫主要是一些金藻和甲藻, 如 Cole 和 Wynne^[11]曾报道混合营养型金藻 *Ochromonas danica* Prings 能够吞噬铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*), Holen^[12] 和 Zhang, et al.^[13,14] 对 *Poterioochromonas malhamensis* 吞噬藻类的行为进行了研究。一些野外调查和室内试验发现

混养鞭毛虫的营养方式是多变的, 其营养模式并不能作为物种分类的依据, 而是与它们自身的生理状况以及外界环境因子有关^[10,15]。当环境中光照强度和无机碳或其他光合作用所需无机盐受限时, 混合营养型生物从自生长转为异生长, 当环境中饵料减少或者存在捕食竞争者时, 生长方式则由异养型转为自养型。如甲藻 *Fragilidium subglobosum* 在低光照条件下会发生捕食行为, 但强光照会抑制这种行为的发生^[16]。

在微囊藻的大量培养过程中我们发现一株能够快速摄食微囊藻的鞭毛虫, 除了通过吞噬微囊藻进行噬生长外, 此鞭毛虫还含有色素体, 能够自养生长。经过一系列的工作包括单细胞分离、培养和分子鉴定, 发现它的 18S rDNA (GenBank Accession No. AY699607)与金藻门中 *P. malhamensis* 的亲源关系最近, 两者有 99% 的相似性, 故定为 *Poterioochromonas* sp.^[17]。本文的研究内容是以人工培养

收稿日期: 2008-05-21, 修订日期: 2009-02-19

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(2002CB412306); 中国科学院知识创新工程重要方向性项目(KZCX2-YW-426)资助

作者简介: 郭胜娟(1979—), 女, 汉族, 湖北浠水人; 博士; 主要从事藻类生理生态学研究。E-mail: guoshj@ihb.ac.cn

通讯作者: 宋立荣, E-mail: lrsong@ihb.ac.cn

的铜绿微囊藻为饵料, 研究了 *Poterioochromonas* sp. 在不同起始饵料浓度下的生长与吞噬饵料的快慢, 并探讨光强、温度和 pH 等环境因子对它们的影响, 以便对该鞭毛虫的生长特性有较全面的了解, 为进一步研究此类金藻是否参与自然界微囊藻水华的消退过程及其在生物控藻上的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

金藻 *Poterioochromonas* sp. 分离自微囊藻的大规模培养物, 培养基为改良的无菌 BG-11。铜绿微囊藻(*M. aeruginosa* FACHB469)作为实验过程中的饵料, 由中国科学院水生生物研究所淡水藻种库(FACHB-collection, CAS)提供, 利用与金藻相同的培养基在光照培养箱(FPG, 宁波莱福科技有限公司)中培养。除特别说明外, 光周期为 12:12(L:D), 光强为 25 $\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, 温度为(22±1)°C。

1.2 不同起始饵料浓度对金藻生长和吞噬速率的影响

离心收集金藻后, 用无菌改良 BG-11 重悬浮, 分装 60 mL 到 100 mL 的锥形瓶中, 金藻的起始浓度为 $2.5 \times 10^5 \text{ cells/mL}$ 。离心收集处于对数生长末期的铜绿微囊藻, 无菌水清洗三遍后, 再用无菌改良 BG-11 重悬浮, 取一定体积的浓缩藻液加入到上述金藻中, 起始饵料浓度在 1×10^5 — $4.3 \times 10^7 \text{ cells/mL}$ 范围, 每种饵料浓度设置 3 个平行, 以同量的微囊藻在 60 mL 无菌改良 BG-11 培养基中生长为饵料藻生长的对照(ck)。

由预实验可知喂食饵料后 3h 内(光周期中提供光照的时间段, 下同)饵料藻的减少与时间成线性关系, 因此, 可以利用前 3h 饵料藻的减少来计算金藻对饵料藻的吞噬速率(cells/flag·h)。利用以下公式^[18]计算:

$$\begin{aligned} I &= \Delta P/F\Delta t = \Delta P/[(F_2-F_1)/(\ln F_2-\ln F_1) \times \Delta t] \\ &= [(P_2-P_1)+(P_{ck2}-P_{ck1})]/[(F_2-F_1)/(\ln F_2-\ln F_1) \times \Delta t] \end{aligned} \quad (\text{Eq.1})$$

其中, ΔP 为饵料藻在 Δt 时间内(即 3h)减少的细胞浓度(cells/mL), P_2 和 P_1 表示喂食实验起始和 3h 时饵料藻的细胞浓度(cells/mL); P_{ck2} 和 P_{ck1} 表示对照组(纯微囊藻组)实验起始和 3h 时微囊藻的细胞浓度(cells/mL); F_2 和 F_1 表示喂食起始和 3h 时金藻的细胞浓度(cells/mL)。

另外, 每 12h 取样, 利用血球计数板计数单位

体积中金藻的细胞数, 并通过金藻细胞浓度的对数值与时间(对数生长期, 48h 内)的拟合求出金藻的生长速率(/h)。

1.3 不同光强下金藻的生长实验

实验规模同 1.2。光强设置为 0、10、25、50、100 和 200 $\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, 仪器: LI-COR LI-185B photometer, LI-COR Inc., USA。所有实验材料事先在各光强下适应培养 6h。金藻起始浓度为 $2.6 \times 10^5 \text{ cells/mL}$, 饵料藻浓度为 $5.80 \times 10^6 \text{ cells/mL}$, 每种光强均设置自养对照。利用 1.2 所述方法求出金藻的吞噬速率(cells/flag·h)和生长速率(/h)。

1.4 不同温度下金藻的生长实验

实验规模同 1.2。设置培养箱中温度梯度为 10、16、22、30、35°C, 波动范围均为±1°C。所有实验材料事先在各温度下适应培养 6h。起始金藻的浓度为 $3.0 \times 10^5 \text{ cells/mL}$, 起始饵料浓度为 $5.0 \times 10^6 \text{ cells/mL}$, 每种温度下均设置自养对照。利用 1.2 所述方法求出金藻的吞噬速率(cells/flag·h)和生长速率(/h)。

1.5 不同起始 pH 下金藻的生长实验

实验规模同 1.2。设置培养基起始 pH 梯度为 6、7、8、9 和 10, 波动范围为±0.05, pH 计:Sartorius AG PB-10, Germany。所有实验材料事先在各 pH 下适应培养 6h, 起始金藻的浓度为 $4.0 \times 10^5 \text{ cells/mL}$, 起始饵料浓度为 $7.8 \times 10^6 \text{ cells/mL}$, 每种 pH 下均设置自养对照。利用 1.2 所述方法求出金藻的吞噬速率(cells/flag·h)和生长速率(/h)。

1.6 数据分析

金藻的生长速率和吞噬速率与各实验中环境因子之间的相关性采用 Spearman 相关性分析(SPSS13.0)。

金藻的吞噬速率与起始饵料浓度的关系可以用 Michaelis-Menten 方程拟合:

$$I = I_{\max} \times M / (M + K_m) \quad (\text{Eq.2})$$

其中, I 为金藻的吞噬速率(cells/flag·h), I_{\max} 表示金藻吞噬饵料的最大吞噬速率(cells/flag·h), M 为饵料藻的细胞浓度($\times 10^6 \text{ cells/mL}$), K_m 为半饱和常数, 即当金藻的吞噬速率为 $1/2 I_{\max}$ 时所需饵料浓度($\times 10^6 \text{ cells/mL}$)。

参考文献[12], 混合营养金藻的生长速率可用校正的 Monod 方程拟合:

$$\mu = \mu_{\max} (M - M_0) / (M - M_0 + K_m) \quad (\text{Eq.3})$$

式中, μ 为金藻的生长速率(/h), μ_{\max} 为金藻的最

大生长速率($/h$), M 为饵料藻的细胞浓度($\times 10^6$ cells/mL), M_0 为金藻零生长时饵料微囊藻的浓度($\times 10^6$ cells/mL), K_m 为 Monod 常数, 即当金藻的生长速率为 $1/2 \mu_{\max}$ 时所需饵料浓度($\times 10^6$ cells/mL)。

金藻的生长速率与光强之间的关系可以用 Monod 方程来描述：

$$\mu = \mu_{\max} L / (L + K_l) \quad (\text{Eq.4})$$

式中, μ 为金藻的生长速率(/h), μ_{\max} 为金藻的最大生长速率(/h), L 为光照强度($\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$), K_l 为 Monod 常数, 即当金藻的生长速率为 $1/2 \mu_{\max}$ 时所需光照强度($\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$)。

2 结果

2.1 起始饵料浓度对金藻吞噬速率和生长的影响

当喂食不同起始浓度的饵料藻(*M. aeruginosa* FACHB469)时, 金藻对饵料的摄食快慢与饵料的起始浓度之间呈现双曲线关系(图1)。利用(Eq.2) 拟合得出其最大吞噬速率为(3.3±0.3) cells/flag·h, 并且 $K_m = (3.76 \pm 0.98) \times 10^6$ cells/mL, $r^2 = 0.946$ 。

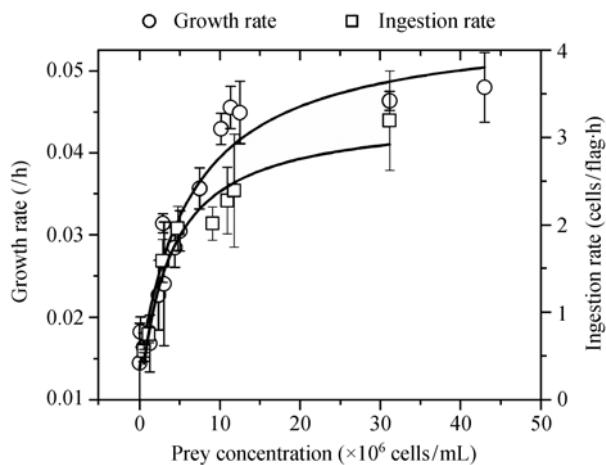


图 1 金藻的吞噬速率和生长速率与饵料 (*M. aeruginosa* FACHB 469) 起始浓度的关系

Fig. 1 Ingestion rates and growth rates of *Poterioochromonas* sp. feeding on *M. aeruginosa* FACHB469 as functions of initial prey concentration (Error bars represent $\pm SD$)

类似的，在 $(0.1-12) \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 范围内，当起始饵料浓度增大时，指数生长期金藻的生长速率也增大，最大的生长速率为 $0.046/\text{h}$ ，此时饵料浓度为 $12 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 。当饵料浓度超过这个范围时金藻的生长速率没有继续增长。根据 Eq.3 拟合分析后可知式中各参数值为： $\mu_{\max} = 0.054 \pm 0.004 / \text{h}$ ， $M_0 = -(1.46 \pm 0.580) \times 10^6 \text{ cells/mL}$ ， $K_m = (4.24 \pm 1.345) \times 10^6$

cells/mL, $r^2 = 0.919$ 。本株金藻能够在缺乏饵料时利用光能生长, 故其 M_0 (零生长时 *M. aeruginosa* 的起始浓度)为一负值(图 1)。

相关分析是通过参数间的相关系数来衡量变量之间的紧密程度,不论变量间的总体分布如何,都可以采用 Spearman 相关性分析。结果显示,金藻的吞噬速率和生长速率与起始饵料藻的浓度之间均表现出强的正相关关系(前者 Spearman's $r = 1$, 后者 Spearman's $r = 0.943$),其显著性概率均满足 $P < 0.05$ 。而且,就生长速率和吞噬速率而言,其相关系数 Spearman's $r = 0.952$,其显著性概率 $P < 0.01$,即二者之间亦表现出强的正相关关系。

2.2 光强对金藻吞噬速率和生长的影响

不同光强下的喂食实验证实, 喂食同量的饵料时, 实验时间内金藻的摄食速率没有显著不同($P>0.05$), 黑暗条件下金藻仍能够快速吞噬微囊藻, 高光下吞噬速率略快(图 2)。

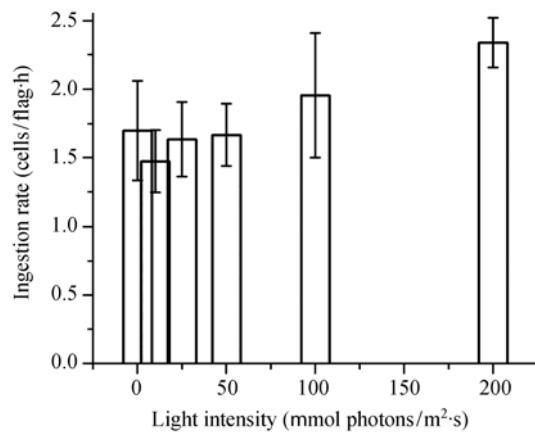


图2 不同光强下喂食 *M. aeruginosa* FACHB 469 (5.80×10^6 cells/mL) 金藻的吞噬速率

Fig. 2 Ingestion rates of *Poterioochromonas* sp. when fed with *M.aeruginosa* FACHB469 (5.80×10^6 cells/mL) under different light intensity (Error bars represent \pm SD)

不同光强下,混合营养金藻的生长均较自生长快,并且无论是否投喂饵料,当光强超过 $50 \mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ 时,其生长速率增幅变小(图 3)。利用(Eq.4)拟合得出自养条件下最大生长速率为 $(0.028 \pm 0.005) / \text{h}$,并且 $K_l = (26 \pm 15) \mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, $r^2 = 0.924$ 。混合营养条件下最大生长速率为 $(0.044 \pm 0.003) / \text{h}$,并且 $K_l = (9 \pm 3) \mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$, $r^2 = 0.941$ 。由其 Monod 常数可知,混合营养时半饱和光强小于自养时的半饱和光强。Spearman 相关性分析得出,无论是自养条件还是混合营养条件,金藻的生长与光强之间表现出强的正

相关关系(前者 Spearman's $r = 1$, 后者 Spearman's $r = 0.943$), 其显著性概率均满足 $P < 0.05$ 。

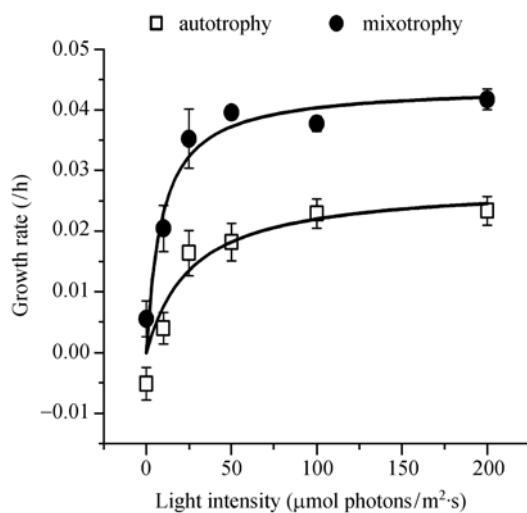


图 3 不同光强下自养和混合营养金藻的生长速率

Fig. 3 Growth rates of autotrophic and mixotrophic *Poterioochromonas* sp. (fed with 5.80×10^6 cells/mL *M. aeruginosa* FACHB469) under different light intensity (Error bars represent \pm SD)

不同光强下混合营养生长速率和吞噬速率之间

Spearman's $r = 0.810$, 其显著性概率满足 $P < 0.05$ 。

2.3 温度对金藻吞噬速率和生长的影响

实验中当温度不超过 30℃ 时, 喂食后 3h 内金藻吞噬饵料的速率随着温度的上升而加快(图 4)。最大的吞噬速率发生在 30℃ 时, 为 (2.2 ± 0.2) cells/flag·h; 最小的吞噬速率发生在 10℃ 时, 为 (0.5 ± 0.3) cells/flag·h。对 22℃ 时的吞噬速率与 30℃ 时的吞噬速率进行比较分析, 两组数据没有显著性差异($P > 0.05$), 说明金藻在 22—30℃ 范围内均能以较快速率吞噬微囊藻。在 35℃ 时, 喂食后金藻能够吞噬微囊藻, 但是其吞噬速率小于 30℃ 时的速率。分析得出金藻的吞噬速率与温度之间 Spearman's $r = 0.754$, 但其显著性概率 $P > 0.05$, 温度升高吞噬速率反而下降。实验还发现除 10℃ 外, 其他温度条件下, 饵料均在 24h 内被吞噬完毕。

在各温度下, 喂食饵料后金藻的生长均较自养生长快(图 5)。对自养而言, 在 30℃ 内, 随着温度的升高, 其生长加快; 在 35℃ 时, 其仍能快速生长, 生长速率稍低于 30℃。金藻的自养生长与温度之间表现出强的正相关关系(Spearman's $r = 0.9$, $P < 0.05$)。但对混合营养而言, 其相关系数的显著性概率 $P > 0.05$ 。当温度不超过 22℃ 时混合营养金藻的生长

随着温度的上升而加快, 但是当温度超过 30℃ 时其生长速率却降低。混合营养金藻的最大生长速率发生在 22℃ 时, 为 (0.034 ± 0.001) /h。30℃ 时的生长速率与 22℃ 时的生长速率无显著性差异($P > 0.05$), 说明混合营养性金藻在 22—30℃ 范围内均能较快生长。实验过程中还发现, 在 10℃ 时, 尽管金藻吞噬饵料微囊藻的速度较慢, 但其仍然能够缓慢生长。

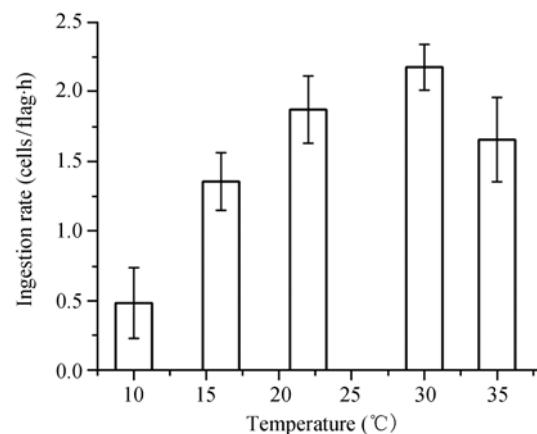


图 4 不同温度下喂食 *M. aeruginosa* FACHB 469 (5×10^6 cells/mL)后金藻的吞噬速率

Fig. 4 Ingestion rates of *Poterioochromonas* sp. when fed on 5×10^6 cells/mL *M. aeruginosa* FACHB469 under different temperature. (Error bars represent \pm SD)

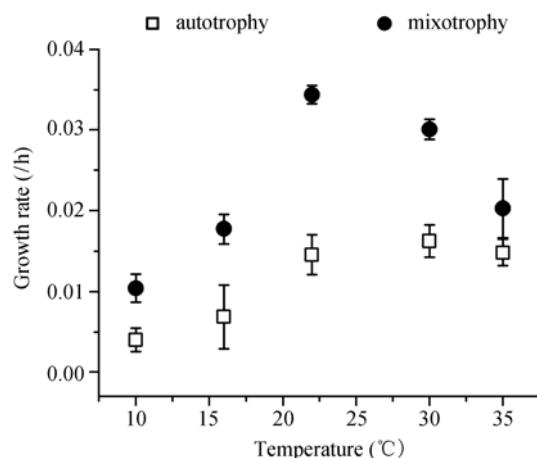


图 5 不同温度下自养和混合营养金藻的生长速率

Fig. 5 Growth rates of autotrophic and mixotrophic *Poterioochromonas* sp. (fed on 5×10^6 cells/mL *M. aeruginosa* FACHB469) under different temperature (Error bars represent \pm SD)

不同温度下混合营养金藻生长速率和吞噬速率之间 Spearman's $r = 0.9$, 其显著性概率 $P < 0.05$ 。

2.4 pH 对金藻吞噬速率和生长的影响

由图 6 可知, 在 pH 6—10 范围内, 金藻的吞噬速率随着 pH 的升高而降低, 二者之间存在强的负相

关系(Spearman's $r = -1, P < 0.05$)。除了 pH 9 和 pH 10 外, 其他条件下的饵料在实验的 24h 内均被吞噬完毕。

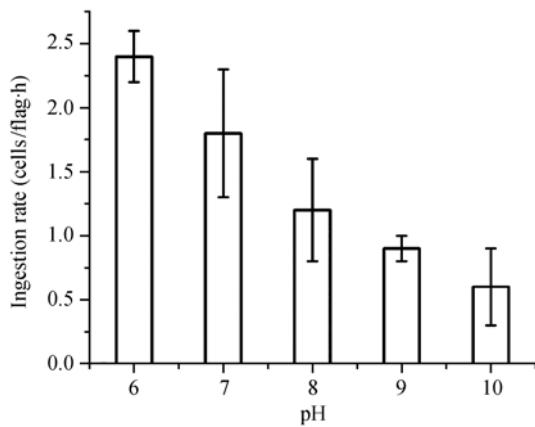


图 6 不同 pH 条件下喂食 *M. aeruginosa* FACHB 469(7.8×10^6 cells/mL)后金藻的吞噬速率

Fig. 6 Ingestion rates of *Poterioochromonas* sp. when fed on 7.8×10^6 cells/mL *M. aeruginosa* FACHB469 under different pH (Error bars represent \pm SD)

自养金藻在 pH 为 6 和 10 时, 生长缓慢, 在 pH 7—9 下, 均较快生长。并且, pH 为 8 时生长最快。混合营养时生长速率均快于自养, 在 pH 7—8 的范围内, 金藻均能较快生长, 当 pH 超过 8 后, 其生长随着 pH 的升高反而下降(图 7)。Spearman 相关性分析得出, 无论是自养还是混合营养, 生长速率与 pH 间相关系数的显著性概率 $P > 0.05$, 说明两者间相关性不显著。不同 pH 下混合营养金藻生长速率和吞噬速率之间 Spearman's $r=0.7$, 但其显著性概率 $P > 0.05$ 。

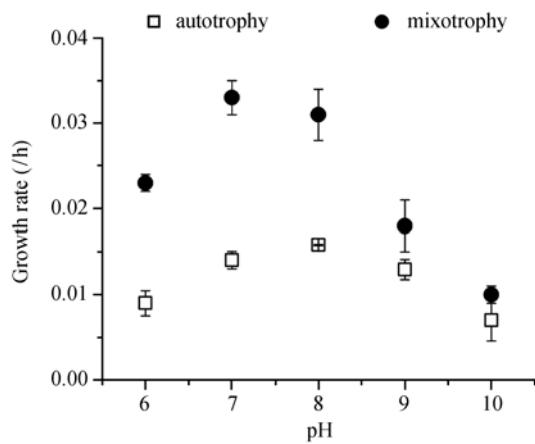


图 7 不同 pH 条件下自养和混合营养金藻的生长速率

Fig. 7 Growth rates of autotrophic and mixotrophic *Poterioochromonas* sp. when fed on 7.8×10^6 cells/mL *M. aeruginosa* FACHB469 under different pH (Error bars represent \pm SD)

3 讨 论

湖泊富营养化的加剧, 导致蓝藻水华频繁发生, 尤其是微囊藻水华所带来的环境灾害已引起人们的广泛关注。目前国内外控制蓝藻水华的方法主要有化学法、物理法和生物法。其中, 生物学方法主要从生态的角度, 通过生物间的营养竞争和捕食关系来达到杀藻的目的, 是一种对环境破坏较小且很有应用前景的控藻方法。自然界中有很多生物可以抑制藻类的生长, 如蓝藻病毒、溶藻细菌及食藻原生动物等^[19]。如王进等^[20]从一个发生水华的池塘采集分离到一种能吞噬微囊藻的动基体目鞭毛虫(*Kinetoplastida*); Liu, et al.^[21]报道了一种变形虫 *Naegleria* sp. 能够快速吞噬并消化鱼腥藻(*Anabaena*)。但是, 人为主动利用这些原生动物控制蓝藻水华的研究仍处于尝试阶段, 尚未见到实际应用的报道。

随着对微生物在水生态系统中的碳循环和营养流通途径中贡献的认识^[22], 研究人员越来越多的关注到水生态系统中的混合营养型微生物的生活情形, 特别是环境因素对这些生物生活习性的影响^[1—3, 12]。本实验室对分离获得的食藻鞭毛虫 *Poterioochromonas* sp. 在不同环境因子下的生长和食藻特性进行了研究, 旨在探索其控制微囊藻水华的可能性。

3.1 温度对金藻生长和噬藻速率的影响

在实验的温度范围内(10 — 35 ℃), 无论是光合自养还是混合营养, *Poterioochromonas* sp. 均能持续增殖, 这说明其对温度的适应范围广, 能耐受较高的温度。蒋霞敏等^[23]报道对其他金藻如 *Pavlova viridis* 来说, 其适温范围也较广, 在 5 — 30 ℃的条件下均有不同程度的生长。对本株金藻而言, 温度在低于 30 ℃时其吞噬饵料的速率随着温度的上升而加快, 在 30 ℃时金藻具备最快的吞噬速率。在我国, 微囊藻水华暴发通常发生在夏季, 水温通常在 20 — 30 ℃范围, 由此, 我们推断 *Poterioochromonas* sp. 具备在野外生存的可能性。

3.2 pH 对金藻生长和噬藻速率的影响

与其他藻类一样, 金藻对环境 pH 的反应种间差异性较大, 如 Roijackers^[24]调查发现, *Synura sphagnicola* 只在低 pH 水体中出现, *S. petersenii* 和 *S. glabra* 在低 pH 水体中即使存在其丰度也较低, 而 *S. curtipina* 根本不出现在低 pH 水体中。Siver^[25]报道, *Mallomonas galeiformis* 喜好微酸环境, 但在

低于 5.8 的水体中不能存在, 故其可作为水体 pH 指示的生物。对 *Poterioochromonas* sp. 而言, 其生长速率与 pH 间的相关性不显著, 各 pH 条件下金藻能够继续繁殖, 并且 pH 在 7—8 的范围内金藻吞噬饵料最快, 其生长也最好。实验中还观察到金藻在 pH10 的培养液中预培养时, 起初金藻的浓度明显下降, 继续培养发现随着时间的延长金藻的浓度有小幅增加; 混合营养条件下金藻仍然能够吞噬饵料。这说明金藻一方面对 pH 的变化比较敏感, 另一方面其适应能力较强, 能较快适应新的环境。

3.3 起始饵料浓度对金藻生长和噬藻速率的影响

自养 *Poterioochromonas* sp. 在转入黑暗培养后 2d 内其生长速率为负值; 对应的提供饵料后, 金藻能够通过吞噬饵料进行单纯的噬生长, 2d 内金藻细胞数上升。但是继续投喂饵料并进行黑暗培养, 通过监测其生长和饵料吞噬情况后, 发现 1 周后培养瓶中只有少量活跃金藻存在, 而饵料藻细胞数反而上升。这说明, 金藻不能长期以专性噬养的方式来维持生长。换句话说, 适量的光照对 *Poterioochromonas* sp. 的生长是必需的。同时, 实验发现无论是自养还是混合营养, *Poterioochromonas* sp. 的生长速率与光强之间的关系可以用 Monod 方程来表示, 并且混合营养时生长速率普遍较高, 这说明饵料能够显著促进金藻的生长。另外, 混合营养生长时生长速率与吞噬速率之间也存在强的正相关关系, 这也补充说明吞噬饵料能够为金藻的生长提供营养, 即混和营养时金藻生物量的增加是光合自养和噬养加和作用的结果。

许多研究摄食快慢的实验是以小个体的细菌为饵料, 针对鞭毛虫对微囊藻的吞噬的报道较少。在 *Poterioochromonas* sp. 培养瓶中一旦加入微囊藻, 其对饵料的摄食即可发生, 这同其他株的 *Poterioochromonas* 的报道相似^[27]。同时, 其生长和摄食速率与起始饵料浓度之间均呈双曲线关系 (Hyperbolic function), 提供足够的微囊藻饵料时, 其最大吞噬速率高于 *P. malhamensis* 对绿藻 *Chlorella pyrenoidosa* 的吞噬^[14], 但小于报道的 *Ochromonas* sp. 以及 *Spumella* sp. 吞噬细菌的速率^[8,30,31]。提供足够的饵料后, 本株金藻的 μ_{max} (0.054 /h) 小于 Holen^[12]的报道(0.095 /h, 喂食细菌), 其原因一方面可能是不同饵料提供的营养不同, 另一方面不同株的金藻对饵料的吞噬快慢不一, 并且

摄食过程中金藻的能量消耗和营养转化效率也可能不同。

3.4 光强对金藻生长和噬藻速率的影响

喂食同量的饵料时, 光强对 *Poterioochromonas* sp. 的吞噬速率没有显著影响, 黑暗培养条件下的吞噬速率与光照组之间相差不显著, 只是高光下吞噬速率略强。与此报道类似的是光照对 *Ochromonas* sp. 和 *P. malhamensis* 的噬生长没有影响, 在光照和黑暗条件下, 二者对细菌的吞噬速率是相同的^[26—28]。Zhang, et al.^[14]发现光照对 *P. malhamensis* 的噬生长的速率没有影响, 同时观察到这种金藻只能耐受 5d 的黑暗环境。与此不同的是光照对 *Dinobryon cylindricum* 的吞噬速率和生长有很大的影响, 在黑暗条件下时, *D. cylindricum* 对细菌的吞噬作用立即停止, 其生物量也减少^[29]。Holen^[12]报道了从野外分离的 *P. malhamensis* 的吞噬速率与光强成负的相关关系。由此可见, 不同生物噬生长的情况与光照的关系有很大的差异。

4 结 论

总之, 对于金藻 *Poterioochromonas* sp. 来说, 其能够生存的环境范围较广。喂食饵料能显著促进其生长。*Poterioochromonas* sp. 的自生长与光强和温度的相关性强, 与 pH 的相关性不显著; 混合营养生长与起始饵料浓度和光强的相关性强; 提供相同量的饵料时, 其生长与温度和 pH 的相关性不显著。*Poterioochromonas* sp. 对微囊藻的摄食速率与起始饵料浓度之间表现出强的正相关关系, 与 pH 为强的负相关关系, 而与光强和温度的相关性不显著。除了在不同 pH 下的生长外, 混合营养金藻的生长速率与吞噬速率之间存在强的正相关关系, 这说明吞噬饵料能够给金藻的生长提供营养。

虽然目前要想将 *Poterioochromonas* sp. 用于控制野外微囊藻水华还为时尚早, 但我们的研究给生物控藻提供了一种新的途径。尽管野外水华暴发时微囊藻主要以群体形式存在, 但是结合微囊藻水华发生和消亡的特点, *Poterioochromonas* sp. 可以用于单细胞微囊藻的去除, 可以结合其他控藻因子用于控制水华。

参考文献 :

- [1] Jones R I. Mixotrophy in planktonic protists as a spectrum of

- nutritional strategies [J]. *Aquatic Microbial Ecology (Marine Microbial Food Webs)*, 1994, **8**: 87—96
- [2] Porter K G. Phagotrophic phytoflagellates in microbial food webs [J]. *Hydrobiologia*, 1988, **159**: 89—97
- [3] Sanders R W. Mixotrophic protists in marine and freshwater ecosystems [J]. *Journal of Protozoology*, 1991, **38**: 76—81
- [4] Stoecker D K, Taniguchi A, Michaels A E. Abundance of autotrophic, mixotrophic and heterotrophic planktonic ciliates in shelf and slope waters [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1989, **50**: 241—254
- [5] Stoecker D K. Mixotrophy among dinoflagellates [J]. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 1999, **46**: 397—401
- [6] Jones R I. Mixotrophy in planktonic protists: an overview [J]. *Freshwater Biology*, 2000, **45**: 219—226
- [7] Bird D F and Kalf J. Bacterial grazing by planktonic lake algae [J]. *Science*, 1986, **231**: 493—495
- [8] Boenigk J, Matz C, Jürgens K, et al. Food concentration-dependent regulation of food selectivity of interception-feeding bacterivorous nanoflagellates [J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2002, **27**: 195—202
- [9] Hahn M W and Höfle M G. Flagellate predation on a bacterial model community: interplay of size-selective grazing, specific bacterial cell size, and bacterial community composition [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, **65**(11): 4863—4872
- [10] Isaksson A. Phagotrophic phytoflagellates in lakes—a literature review [J]. *Archiv fur Hydrobiologie Special Issue Advances in Limnology*, 1998, **51**: 63—90
- [11] Cole G T and Wynne M J. Endocytosis of *Microcystis aeruginosa* by *Ochromonas danica* [J]. *Journal of Phycology*, 1974, **10**: 397—410
- [12] Holen D A. Effects of prey abundance and light intensity on the mixotrophic chrysophyte *Poterioochromonas malhamensis* from a mesotrophic lake [J]. *Freshwater Biology*, 1999, **42**: 445—455
- [13] Zhang X M, Watanabe M M and Inouye I. Light and electron microscopy of grazing by *Poterioochromonas Malhamensis* (Chrysophyceae) on a range of phytoplankton taxa [J]. *Journal of Phycology*, 1996, **32**: 37—46
- [14] Zhang X M and Watanabe M M. Grazing and growth of the mixotrophic chrysomonad *Poterioochromonas malhamensis* (Chrysophyceae) feeding on algae [J]. *Journal of Phycology*, 2001, **37**: 738—743
- [15] Jones H L J. A classification of mixotrophic protists based on their behaviors [J]. *Freshwater Biology*, 1997, **37**: 35—43
- [16] Skovgaard A. Mixotrophy in *Fragilidium subglobosum* (Dinophyceae): growth and grazing responses as functions of light intensity [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1996, **143**: 247—253
- [17] Ou D Y. Role of golden alga *Poterioochromonas* sp. in predation and toxicity transformation of *Microcystis aeruginosa* and microcystin degradation [D]. Doctoral Dissertation of Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan. 2005 [欧丹云. 金藻(*Poterioochromonas* sp.)对微囊藻的吞噬与毒性转化及其对微囊藻毒素的降解作用. 博士学位论文, 中国科学院水生生物研究所, 武汉. 2005]
- [18] Heinbokel J F. Studies on the functional role of tintinnids in the Southern California Bight. I. Grazing and growth rates in laboratory cultures [J]. *Marine Biology*, 1978, **47**: 177—189
- [19] Sigee D C, Glenn R, Andrews M J, et al. Biological control of cyanobacteria: principles and possibilities [J]. *Hydrobiologia*, 1999, **395/396**: 161—172
- [20] Wang J, Li J H, Hua X H, et al. Culture of a *Microcystis*-eating flagellate [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2005, **17**(2): 183—187 [王进, 李建宏, 华秀红, 等. 吞噬微囊藻的鞭毛虫的培养. 湖泊科学, 2005, **17**(2): 183—187]
- [21] Liu X Y, Shi M, Liao Y H, et al. Feeding Characteristics of an Amoeba (*Lobosea: Naegleria*) Grazing Upon Cyanobacteria: Food Selection, Ingestion and Digestion Progress [J]. *Microbial Ecology*, 2006, **51**: 315—325
- [22] Azam F, Fenchel T, Field J G, et al. The ecological role of water-column microbes in the sea [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1983, **10**: 257—263
- [23] Jiang M X, Liu M H and Xing C G. Effect of different ecological conditions on the growth and fatty acid composition of *Pavlova viridis* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2007, **31**(1): 88—93 [蒋敏霞, 柳敏海, 邢晨光. 不同生态条件对绿色巴夫藻生长与脂肪酸组成的影响. 水生生物学报, 2007, **31**(1): 88—93]
- [24] Roijackers R M M. External morphology as taxonomic characteristic in planktonic scale-bearing Chrysophyceae and scale Heliozoa [J]. *Aquatic Ecology*, 1988, **22**(1): 69—73
- [25] Siver P A. Morphology and ecology of *Mallomonas galeiformis* (Chrysophyceae), a potentially useful paleolimnological indicator [J]. *Transactions of the American Microscopical Society*, 1988, **107**: 152—161
- [26] Andersson A, Falk S, Samuelsson G, et al. Nutritional characteristics of a mixotrophic nanoflagellate, *Ochromonas* sp. [J]. *Microbial Ecology*, 1989, **17**: 251—262
- [27] Sanders R W, Porter K G and Caron D A. Relationship between phototrophy and phagotrophy in the mixotrophic Chrysophyte *Poterioochromonas malhamensis* [J]. *Microbial Ecology*, 1990, **19**: 97—109
- [28] Caron D A, Porter K G and Sanders R W. Carbon, nitrogen, and phosphorus budgets for the mixotrophic phytoflagellate *Poterioochromonas malhamensis* (Chrysophyceae) during bacterial ingestion [J]. *Limnology and Oceanography*, 1990, **35**: 433—443
- [29] Caron D A, Sanders R W, Lim E L, et al. Light-dependent phagotrophy in the freshwater mixotrophic chrysophyte *Dinobryon cylindricum* [J]. *Microbial Ecology*, 1993, **25**: 93—111
- [30] Rothhaupt K O. Utilization of substitutable carbon and

- phosphorus sources by the mixotrophic chrysophyte *Ochro-monas* sp. [J]. *Ecology*, 1996, **77**: 706—715
- [31] Wu Q L, Boenigk J, Hahn M W. Successful Predation of Filamentous Bacteria by a Nanoflagellate Challenges Current Models of Flagellate Bacterivory [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, **70**: 332—339

EFFECTS OF ENVIRONMENTAL FACTORS ON THE GROWTH AND INGESTION CHARACTERISTICS OF CHRYSOPHYCEAN *POTERIOOCHROMONAS* SP.

GUO Sheng-Juan^{1,2}, GAN Nan-Qin¹, ZHENG Ling-Ling¹ and SONG Li-Rong¹

(1. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072; 2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049)

Abstract: A chrysophycean *Poterioochromonas* sp. with two different flagella, isolated from *Microcystis* cultures in 2002, can not only photosynthesize with chloroplast, but also efficiently ingest and digest preys, such as *Microcystis*. In order to investigate the potential role of *Poterioochromonas* sp. in cyanobacteria bloom control, experiments were carried out to study its growth and ingestion characteristics under different environmental factors in both autotrophic and mixotrophic conditions. The results showed that the growth rate of autotrophic *Poterioochromonas* sp. was significantly affected by light intensity and temperature except pH. When providing preys, the growth of *Poterioochromonas* sp. was accelerated significantly. The growth and ingestion rate of *Poterioochromonas* sp. increased hyperbolically with prey concentration, and their relationships could be estimated respectively by the Michaelis-Menten equation and Monod equation. The correlation between the growth of mixotrophic *Poterioochromonas* sp. and light intensity was significant, while there were no relationships between the growth rate and temperature and pH. PH had negative effects on the ingestion rate, while the correlations between the ingestion rate and temperature and light intensity were not significant. In a word, this *Poterioochromonas* has the ability to grow and graze *Microcystis* in many culture conditions. The present study had also shed light on the possibility of utilizing this organism, together with other agents, for the control of *Microcystis* bloom.

Key words: *Poterioochromonas* sp.; *Microcystis aeruginosa*; Environmental factors; Growth rate; Ingestion rate