

微囊藻水华期间水体及藻体上细菌的动态*

朱丽萍^{1,2}, 高光^{1**}, 汤祥明^{1,2}, 晁建颖^{1,2}, 沈燕^{1,3}

(1: 中国科学院南京地理与湖泊研究所湖泊与环境国家重点实验室, 南京 210008)

(2: 中国科学院研究生院, 北京 100049)

(3: 南京农业大学, 南京 210095)

摘要: 通过对水体中及附着在藻类上的细菌数量、代谢活性细菌、Chl.a 浓度等的研究, 探讨了藻类与细菌之间的代谢耦联关系, 结果表明: 1) 水体中细菌的丰度随着 Chl.a 浓度的增加而逐渐增大($r^2=0.466$, $P<0.05$), 但其峰值滞后于 Chl.a; 附着在藻体表面上的细菌也呈现出相似的变化规律; 2) 水体中代谢活性细菌数量与总细菌数量显著相关($r^2=0.678$, $P<0.05$); 附着在藻体上的代谢活性细菌虽然总数量低于水体中的代谢活性细菌, 但二者之间亦存在显著的相关性($r^2=0.836$, $P<0.05$). 3) 藻类表面附着细菌的数量取决于藻类的生长状况, 附着在藻类体上的代谢活性细菌的比率均高于水体中代谢活性细菌的比率, 且在水华盛行期间呈逐渐增加的趋势。

关键词: 微囊藻水华; 细菌丰度; 藻上附着细菌; 代谢活性细菌

Variation of bacteria in water and attached on *Microcystis* colonies and their activity during the algal blooms

ZHU Liping^{1,2}, GAO Guang¹, TANG Xiangming^{1,2}, CAO Jianying^{1,2} & SHEN Yan^{1,3}

(1: *State Key Laboratory of Lake Science and Environment, Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, P.R.China*)

(2: *Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, P.R.China*)

(3: *Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, P.R.China*)

Abstract: The bacterial abundance and active bacterial abundance of water and algae attached, as well as the Chl.a and nutrient concentrations, were investigated, and the metabolism coupling between algae and bacteria were also discussed. The results showed: 1) The bacterial abundances of water increased with the Chl.a concentrations increasing($r^2=0.466$, $P<0.05$), although the peak value was delayed with the Chl.a concentration. Variation of the algae attached bacterial abundances were the similar patterns. 2) There was a significantly positive relationship between the active bacterial abundances and total bacterial abundance($r^2=0.678$, $P<0.05$). Although the algae attached active bacterial abundance was less than the active bacterial abundance of water, the significantly increased patterns were also founded with the active bacterial abundance of water increasing ($r^2=0.836$, $P<0.05$). 3) The algae attached bacteria abundances and activities were determined by the algae growth status. The ratio of active algae attached bacteria/total algae attached bacteria was higher than that of total bacteria, and this ratio was increased in the period of May to September during the algal blooms.

Keywords: Algal blooms; bacterial abundance; algal attached bacteria; bacterial activity

作为水生生态系统中的主要生物群落, 微型藻类与细菌之间的相互作用自 20 世纪 80 年代以来受到人

* 中国科学院知识创新工程重要方向性项目(KZCX2-YW-419)、973 项目(2008CB418103)和国家自然科学基金项目(40573062)联合资助。2008-05-27 收稿; 2008-12-13 收修改稿。朱丽萍, 女, 1981 年生, 硕士研究生; E-mail: m201@163.com.

** 通讯作者; E-mail: guanggao@niglas.ac.cn.

们极大的关注^[1-4]。在水生态系统中,藻类和细菌常常结合在一起构成藻-菌共生系统^[5]。一方面藻类在其生长,尤其是衰亡过程中会产生大量的有机物质,为细菌的生长繁殖提供了有利的条件;另一方面细菌在生长过程中,通过分解和转化有机物质,也为藻类的生长提供营养盐和必要的生长因子,并可通过直接或间接的作用抑制藻类的生长,甚至裂解藻体细胞^[6-7]。因此,对藻类和细菌间这种在细胞水平上的密切的代谢耦联关系及其作用环境的深入研究,将有助于对水体中营养物质的生物地球化学循环过程及微囊藻水华发生、发展、衰落与消亡机理的认识。

本研究以大型浅水富营养化湖泊——太湖为研究对象,通过研究水华盛行及消亡期间(5-11月份)细菌数量、代谢活性细菌、Chl.a浓度、DOC以及水体中营养盐的变化特征,通过对比水体中自由生活的浮游细菌及附着在藻类上细菌的差异,探讨水华盛行与消亡期间藻类与细菌之间的代谢耦联关系,为富营养化湖泊水华形成机理的研究提供一些基础资料。

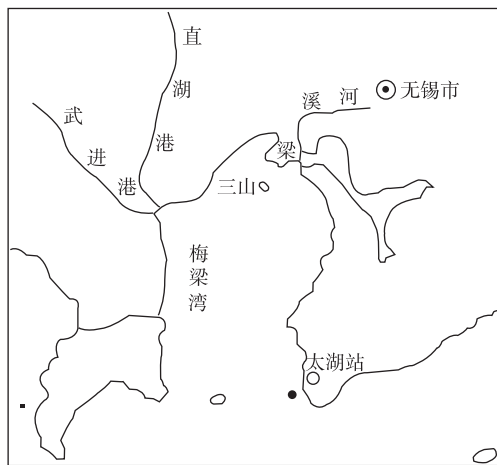


图1 研究区域位置图

Fig.1 The sampling site

1 材料与方法

1.1 样品的采集

本实验的地点为位于太湖梅梁湾的中国科学院太湖湖泊生态系统研究站(120.2°E、31.4°N)(图1)。实验区域的水深约为1.6m。2007年,在蓝藻水华频繁出现及逐渐消亡的5-11月,每月中旬采集水样。

1.2 水样采集

用采水器直接采取水面下约0.5m处的水样,注入事先灭菌的玻璃瓶中,带回实验室立即进行预处理及分析。

1.3 测定参数及方法

TN、TP、TDN、TDP采用过硫酸钾消解,分光光度法测定;PO₄³⁻采用钼蓝比色法测定^[10];Chl.a浓度采用乙醇萃取法测定^[11];DOC用TOC分析仪直接测定。

细菌数量采用DAPI染色、表面荧光法计数^[12-13]。

取5ml水样加入适量DAPI染色10min,用孔径为0.2μm的黑背景聚碳酸酯膜(Poretics™, USA)过滤,荧光显微镜(Zeiss, 100W HBO)在紫外光激发下对细菌进行计数。每个样品随机选取20个视野,至少计数400个细菌。

代谢活性细菌数量,采用INT培养染色、显微镜计数法^[14-15]:新鲜水样加入INT后15℃培养3h,用甲醛固定2h后制片,蓝光下镜检。

藻类表面吸附的细菌数量:参照文献[16]的方法,将水样用3.0μm的millipore滤膜过滤,膜上截留的细菌即被视为藻类表面细菌。

2 结果与讨论

2.1 实验期间水体中营养盐的形态及含量

实验区域水体中营养盐的形态及含量的变化较大(表1),由于实验区域是一开敞水域,与梅梁湾水域相通。其营养盐的形态及含量的变化除受天气、风浪、湖流等各种动力因素影响外,还与梅梁湾水域中营养盐含量及藻类水华关系密切。在5月份水体中Chl.a浓度出现峰值时,TN、TP及TDN、TDP也均处于较高的水平。

2.2 藻类水华期间水体中及藻类群体上附着细菌的数量变动

在藻类水华频繁出现及逐渐消失的实验期间,实验区域水体中Chl.a浓度的波动较大,其最低值(4.9μg/L)与最高值(16.1μg/L)相差3.3倍(图2)。在此期间,水体中细菌的丰度随着Chl.a的浓度增加也呈现出逐渐增加的趋势($r^2=0.466$, $P<0.05$),但其峰值滞后于Chl.a(图2)。吸附在藻类表面的细菌数量虽然

比水体中总的细菌数量低一个数量级, 但其峰值分别出现在藻类水华刚出现及堆积最严重的 5 月及 8 月 (图 2).

表 1 实验期间水体中营养盐的形态及含量

Tab.1 The variations of nutrient forms and concentrations during the period of experiment

日期(月)	TN(mg/L)	TP(mg/L)	DTN(mg/L)	DTP(mg/L)	PO ₄ ³⁻ (mg/L)	DOC(mg/L)
5	5.192	0.166	4.197	0.066	0.021	8.19
6	2.414	0.064	2.196	0.030	0.010	11.86
7	1.497	0.142	0.655	0.042	0.028	6.99
8	1.416	0.131	0.863	0.074	0.043	7.27
9	1.703	0.122	1.097	0.054	0.036	6.71
10	1.509	0.088	1.138	0.032	0.014	8.62
11	1.495	0.068	1.425	0.040	0.013	6.29

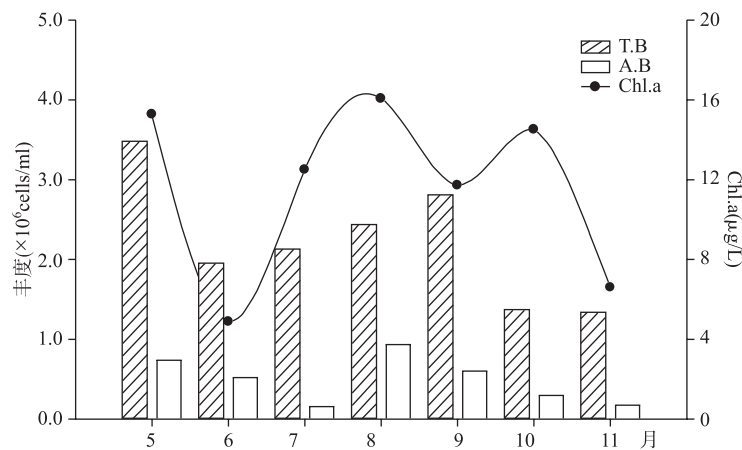


图 2 实验期间水体中 Chl.a 浓度及细菌丰度的变动情况

(T.B: 水体中细菌总数; A.B: 附着在藻类群体上的细菌数量)

Fig.2 The variation of Chl.a concentration and bacterial abundance during the period of experiments

(T.B: total bacterial abundance; A.B: total algae attached bacterial abundance)

水体中细菌的数量变化常与水体中藻类群落的动态变化密切相关. 早在 20 世纪 80 年代, 国外的一些研究就已发现: 在淡水及海洋生态系统中, 细菌的数量常随着水体中营养水平及藻类浓度的增加而增加^[16]. 在对厦门港赤潮发生区进行的微生物调查中也证实^[17]: 在赤潮发生前后, 该区域的细菌数量比正常时期高出近一倍. 然而对于类似太湖这样的大型浅水富营养化湖泊而言, 由于水动力扰动强烈, 加之水体中的营养盐水平较高, 水体中细菌的丰度虽然也呈现出随 Chl.a 浓度增加而增加的趋势^[18], 但由于其峰值常滞后于 Chl.a 浓度, 细菌的数量与叶绿素浓度之间有时并没有清晰的正相关关系(图 2). 此外, 一些研究显示: 在微囊藻水华形成过程中, 微囊藻群体上吸附的细菌数量也大量增加, 可以占到水体中总细菌数的 6%–40%^[19], 尤其是在水华后期开始分解时, 其上的细菌可以占到水体中总细菌生物量的 49%–70%. 这与本实验中的微囊藻上吸附的细菌数量占水体中总细菌数量的比例为 7.4%–38.4%, 平均为 21.2%的实验结果也是比较一致的.

2.3 水体及藻类群体上附着的代谢活性细菌的变化

实验期间, 水体中代谢活性细菌的数量变动在 0.48×10^6 – 1.68×10^6 cells/ml 之间, 最低值和最高值分别

出现在 6 月份和 9 月份(图 3), 其变化的趋势与水体中总细菌数量的变化趋势类似($r^2=0.678$, $P<0.05$). 附着在藻类群体上的代谢活性细菌虽然总数量低于水体中的代谢活性细菌, 但二者之间存在显著的相关性($r^2=0.836$, $P<0.05$). 此外, 附着在藻类群体上的代谢活性细菌的比率均高于水体中活性细菌的比率(5 月除外), 且在 5-9 月的水华盛行期间呈逐渐增加的趋势(图 3).

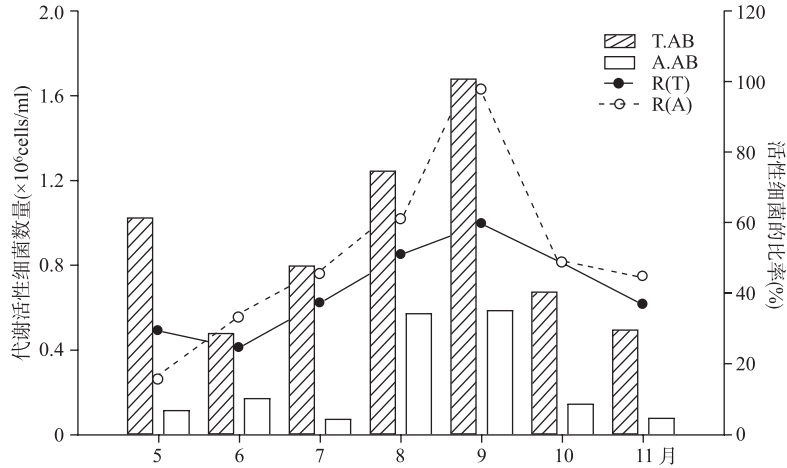


图 3 水体中及附着在藻类群上有代谢活性的细菌数量及比率的变化
(T.AB: 水体中代谢活性细菌数量; A.AB: 附着在藻类群体上的代谢活性细菌数量;
R(T): 水体中代谢活性细菌占总细菌数量的比率;
R(A): 藻类群体上附着的代谢活性细菌占藻类群体上附着总细菌数量的比率)

Fig.3 The total and algae attached active bacterial abundance and ratio of active bacteria vs total bacterial abundance (T.AB: total active bacterial abundance, A.AB: algae attached active bacterial abundance, R(T): the ratio of active bacterial abundance vs total bacterial abundance, R(A): the ratio of algae attached active bacterial abundance vs total algae attached bacterial abundance)

水体中的有机物质通常只有通过微生物的作用才能被分解, 提供给其它生物利用. 对于水体中的细菌而言, 只有有代谢活性的细菌才具有生长、吸收营养盐及转化有机物质的能力^[20], 而水体中大量的细菌是处于休眠或死亡等无代谢活性状态的, 具有代谢活性的细菌仅占其中的一部分^[21]. 由于受水体中营养盐浓度及其它环境条件的影响, 不同水体中有代谢活性细菌占总细菌的比例差异极大, 其比例可以从贫营养海洋中的<5%变化到富营养化海湾中的>50%^[20], 在一些超富营养化的湖泊中这个比例甚至可以达到 100%^[22]. 本实验中所测定的实验区域水体中有代谢活性的细菌占总细菌数量的比率变动在 24.6%~59.7%之间, 均值为 41%(图 3), 高于一些文献中报道的在其它湖泊中约 23%的均值^[20], 但与已报道的太湖梅梁湾水体中约 37%的均值是非常接近的^[23].

此外, 本实验也证实: 相对于水体中的浮游细菌而言, 附着在藻类群体上的细菌种群具有更高的代谢活性^[8]. 在本实验中, 附着在藻体上代谢活性细菌的比例显著高于水体中代谢活性细菌的比率($R^2=0.889$, $P<0.01$), 其比率最高可达 97.6%(图 3), 虽然其峰值落后于水体中 Chl.a 浓度的峰值.

2.4 微囊藻对水体及藻类群体上附着的代谢活性细菌的影响

水体中微囊藻的生长, 显著影响着水体中细菌的数量及代谢活性. 虽然六月份水体中的 Chl.a 浓度是最低的, 但单位 Chl.a 中代谢活性细菌的数量却是最高的, 且其变化趋势与水体中 Chl.a 浓度的变化趋势相反(图 4). 附着在藻类上的代谢活性细菌的变化趋势与水体中代谢活性细菌的变化趋势基本是一致的, 虽然其最大值出现在 9 月份(图 4).

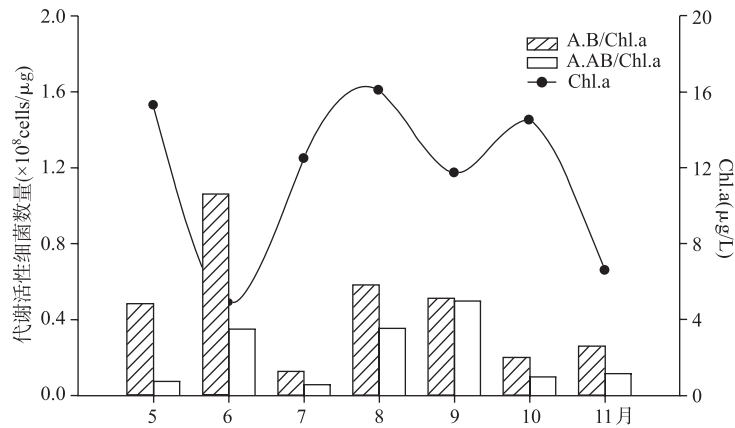


图 4 Chl.a 浓度对水体中及附着在藻类群体上有代谢活性的细菌数量的影响

(A.B/Chl.a: 单位叶绿素中水体有代谢活性细菌数量;

A.AB/Chl.a: 单位叶绿素中附着在藻类群体上的代谢活性细菌数量)

Fig.4 The effect of Chl.a concentration on the total and algae attached active bacterial abundance

(A.B/Chl.a: active bacterial abundance of per unit Chl.a;

A.AB/Chl.a: algae attached active bacterial abundance of per unit Chl.a)

由于微囊藻藻体表面具有多糖的胶壳, 因此他们在自然条件下形成水华时, 通常形成较大的群体, 并且在微囊藻的这些群体上附着有大量的异养细菌(图 5)。这些吸附在微囊藻群体上的异养细菌, 将微囊藻作为其生长的“培养器”, 生活在一个与周围水体理化环境完全不同的微环境中^[19]。在这样的微环境中, 吸附的异养细菌与微囊藻的代谢更紧密地联系在一起。一方面, 微囊藻为具有极高代谢活性的异养细菌提供了吸附的空间及有机碳, 另一方面, 通过细菌的分解作用, 又为微囊藻的生长提供了所需的碳源及其它营养, 这样不仅增加了再循环的营养物质及能量, 而且提供了全部微生物的潜在活性^[24]。

此外, 目前有关吸附细菌及自由生活细菌的营养动力学的一些研究还表明: 蓝藻死亡后, 其残体极易通过微生物的作用而形成有机聚集体^[25], 这些有机聚集体通过提供具有高营养值的容易分解的物质和颗粒, 为细菌营造了一个适宜的微环境, 并反过来又刺激了水体中自由生活的细菌及有机聚集体上细菌的生长, 从而使得聚集体上的细菌的代谢活性极高, 加速了其中营养盐的周转速度, 这样又刺激了下一次蓝藻水华的暴发。

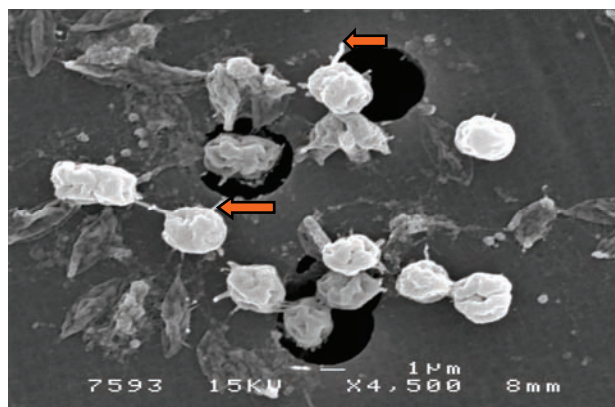


图 5 微囊藻及其表面上附着细菌的电镜照片(箭头所指部分为微囊藻表面上附着的细菌)

Fig.5 The electron microscopy image of *Microcystis* sp. and the attached bacterial

致谢: 中国科学院太湖湖泊生态系统研究站协助采样并提供部分水质数据, 特此致谢。

3 参考文献

- [1] Sherr E, Sherr B. Role of microbes in pelagic food webs: A revised concept. *Limnol Oceanogr*, 1988, **33**: 1225-1227.
- [2] Sommaruga R. Microbial and classical food web: A visit to a hypertrophic lake. *FEMS Microbiol Ecol*, 1995, **17**: 257-270.
- [3] Robarts RD, Arts MT, Evans MS *et al*. The coupling of heterotrophic bacterial and phytoplankton production in a hypertrophic, shallow prairie lake. *Can J Fish Aquat Sci*, 1994, **51**: 2219-2226.
- [4] Billen G. Delayed development of bacterioplankton with respect to phytoplankton: a clue for understanding their trophic relationships. *Arch Hydrobiol Beih Ergebn Limnol*, 1990, **34**: 191-201.
- [5] 连玉武, 王艳丽, 郑天凌等. 赤潮科学中菌藻关系研究的若干进展. *海洋科学*, 1999, (1): 35-38.
- [6] 林伟, 陈马马. 微藻与细菌相互关系研究在海水养殖中的重要意义. *海洋科学*, 1998, (4): 34-37.
- [7] 郑天凌, 田蕴, 苏建强等. 海洋赤潮生物与厦门海域几种细菌的生态关系研究. *生态学报*, 2002, **22**: 2063-2070.
- [8] Doucette GJ, Trick CG. Characterization of bacteria associated with different isolates of *Alexandrium tamarense*. In: Lassus P, Arzul G, Erard E *et al* eds. Paris: Harmful Marine Algal Blooms, Lavoisier Science Publ, 1995: 33-38.
- [9] Sawayama S, Sako Y. Bacterial inhibitions for the mating reaction of *Alexandrium catenella*(Dinophyceae). In: Smayda TL, Shimizu Y eds. Toxic Phytoplankton blooms in the Sea. Amsterdam: Elsevier Sci Publ BV, 1993: 177-181.
- [10] 金相灿, 屠清瑛. 湖泊富营养化调查规范(第二版). 北京: 中国环境科学出版社, 1990: 185-299.
- [11] 陈宇炜, 陈开宁, 胡耀辉. 浮游植物叶绿素 a 测定的“热乙醇法”及其测定误差的探讨. *湖泊科学*, 2006, **18**(5): 550-552.
- [12] Port KG, Feig YS. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol Oceanogr*, 1980, **25**: 943-948.
- [13] 肖林, 杨柳燕, 尹大强主编. 环境微生物实验技术. 北京: 中国环境科学出版社, 2004: 103-107.
- [14] Dufour P, Colon M. The tetrazolium reduction method for assessing the viability of individual bacterial cells in aquatic environments: improvements, performance and applications. *Hydrobiologia*, 1992, **232**: 211-218.
- [15] Thomas P, Jakob P, Albin A *et al*. Cell-specific respiratory activity of aquatic bacteria studied with the tetrazolium reduction method, cyto-clear slides, and image analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, **63**: 867-873.
- [16] Bird DF, Kalff J. Empirical relationship between bacterial abundance and chlorophyll concentrations in fresh and marine waters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1984, **41**: 1015-1023.
- [17] 冯胜, 高光, 秦伯强等. 太湖北部湖区水体中浮游细菌的动态变化. *湖泊科学*, 2006, **18**(6): 636-642.
- [18] 曾活水, 林燕顺, 姚瑞海. 厦门港赤潮发生区细菌量的分布特征. 见: 厦门港赤潮调查研究论文集. 北京: 海洋出版社, 1993: 60-65.
- [19] Jakob W, Morten S. Dynamics of heterotrophic bacteria attached to *Microcystis* spp. (Cyanobacteria). *Aquat Microb Ecol*, 1998, **14**: 19-28.
- [20] Del Giorgio PA, Scarborough G. Increase in the proportion of metabolically active bacteria along gradients of enrichment in freshwater and marine plankton: implications for estimates of bacterial growth and production rates. *Journal of Plankton Research*, 1995, **17**: 1905-1924.
- [21] Philippe D, Jean-Pascal T, Michel C. Advantages of distinguishing the active fraction in bacterioplankton assemblages: some examples. *Hydrobiologia*, 1990, **207**: 295-301.
- [22] Sommaruga R. Microbial and classical food web: A visit to a hypertrophic lake. *FEMS Microbiology Ecology*, 1995, **17**: 257-270.
- [23] Guang G, Boqiang Q, Ruben S *et al*. The bacterioplankton of Lake Taihu, China: abundance, biomass, and production. *Hydrobiologia*, 2007, **581**: 177-188.
- [24] Herndl GJ. Ecology of amorphous aggregations (marine snow) in the Northern Adriatic Sea. II. Microbial density and activity in marine snow and its implication to overall pelagic processes. *Mar Ecol Prog Ser*, 1988, **48**: 265-275.
- [25] Simon M, Grossart HP, Schweitzer B *et al*. Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems. *Aquat Microb Ecol*, 2002, **28**: 175-211.