角突网纹溞在太湖微囊藻群体形成中的作用*

杨桂军^{1,2}, 秦伯强^{2**}, 高 光², 朱广伟², 成小英¹

(1: 江南大学环境与土木工程学院, 无锡 214122)

(2: 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)

摘 要: 将太湖微囊藻水华中 3 种优势微囊藻包括水华微囊藻 1028、惠氏微囊藻 929、铜绿微囊藻 469 和铜绿微囊藻 905 培养在改良后的 BG-11 培养基(TN=10mg/L, TP=0.4mg/L)中, 然后加入角突网纹溞, 以研究 3 种优势微囊藻对浮游动物摄食压力的形态反应, 整个实验共进行了 12d. 除了水华微囊藻 1028 以外, 在惠氏微囊藻 929、铜绿微囊藻 469 和铜绿微囊藻 905 中没有观察到有大群体(大于 10 个细胞)的出现. 在水华微囊藻中, 处理组大群体细胞所占总细胞的比例与对照组显著不同, 其中对照组占 22%, 而试验组占 53%. 水华微囊藻对照组和处理组中单细胞、2 细胞、小群体(3-10 个细胞)和大群体(大于 10 个细胞)细胞密度存在显著的不同. 实验第 6-12d, 水华微囊藻对照组和试验组单位大群体细胞数量存在显著差异. 研究结果表明, 角突网纹溞的摄食压力不能促使惠氏微囊藻 929、铜绿微囊藻 469 和铜绿微囊藻 905 形成大群体. 角突网纹溞的摄食促使水华微囊藻形成更大的群体.

关键词: 微囊藻; 群体形成; 角突网纹溞; 摄食; 诱导防御; 太湖

Effect of *Ceriodaphnia cornuta* in colony formation of *Microcystis* in Lake Taihu

YANG Guijun^{1,2}, QIN Boqiang², GAO Guang², ZHU Guangwei² & CHENG Xiaoying¹

(1: School of Environment and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, P.R.China)

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

Abstract: Experiments were carried on by using four dominant species of *Microcystis* of Lake Taihu, including *Microcystis aeruginosa* 905 (toxic), *M. aeruginosa* 469 (non toxic), *M. flos-aquae* 1028 and *M. wesenbergii* 929, grazing by *Ceriodaphnia cornuta* cultured in a modified BG-11 medium (TN=10mg/L, TP=0.4mg/L) with over 12 day tests. No large colony (above 10 cells) formations in *M. aeruginosa* 905, *M. aeruginosa* 469 and *M. wesenbergii* 929 were observed in the controls and treatments except for *M. flos-aquae* 1028. The cells proportion of large colony of *M. flos-aquae* to total cells was significant different between controls and treatments, contributing 22% in controls and 53% in treatments. There were significant differences between controls and treatments in *M. flos-aquae* in density of different units of unicell, two-cells, small colony (3-10 cells) and large colony. Significant differences were found between controls and treatments in the number of cells per large colony of *M. flos-aquae* from day 6 to day 12 in the experiment. Our results showed that large colony of *M. aeruginosa* 905, *M. aeruginosa* 469 and *M. wesenbergii* 929 can not be obtained by grazing in the *C. cornuta*, but *C. cornuta* is one of important factors in enlarging colony formation of *M. flos-aquae*.

Keywords: *Microcystis*; colony formation; *Ceriodaphnia cornuta*; grazing; Lake Taihu

近些年太湖每年都暴发蓝藻水华, 尤其以 2007 年最为严重, 蓝藻水华的暴发对太湖周边地区人们的生活、生厂和可持续发展带来了严重的影响. 因此, 太湖蓝藻水华暴发的原因和机理成为人们关注的问

* 国家自然科学基金重点项目(40730529)和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联合资助.
2008-10-08收稿; 2009-01-07收修改稿. 杨桂军, 男, 1979年生; E-mail: yanggj1979@163.com.

** 通讯作者; E-mail: qinbq@niglas.ac.cn.

题.然而,到目前为止,太湖蓝藻水华暴发的机理还不清楚.

太湖微囊藻水华发生机理尚不清楚,很重要一个原因是:在实验室培养中,微囊藻(比如铜绿微囊藻)通常以单细胞和 2 细胞形式存在^[1-3].然而,在野外条件下,微囊藻主要以群体形式存在,这些微囊藻群体通常由几百、几千甚至上万个细胞组成.因此,如果能在实验室培养出如野外一样的群体微囊藻的话,找到微囊藻水华爆发的机理将成为可能.有研究表明,太湖蓝藻水华的优势种由水华微囊藻、惠氏微囊藻、铜绿微囊藻组成^[4-5],且不同的月份优势种也不同,其中水华微囊藻在 5 月份和 6 月份是优势种,7-9 月份则是惠氏微囊藻、铜绿微囊藻占优势,10 月份和 11 月份也是水华微囊藻为优势种^[5].然而,以前关于太湖微囊藻形成群体的研究基本上都集中在铜绿微囊藻^[3,6],很少有人关注水华微囊藻和惠氏微囊藻,这样以来对太湖蓝藻水华爆发机理的研究就存在很大的空白.所以,本实验以太湖 3 种优势微囊藻,包括水华微囊藻、惠氏微囊藻、铜绿微囊藻作为研究对象.

在自然水体中,浮游动物是浮游植物的最主要捕食者.浮游动物的存在,一方面大量牧食可食性藻类,另外一方面可诱导一些浮游藻类(如栅藻)形成群体以减少被浮游动物牧食^[7-8].太湖微囊藻群体的形成是否有可能是浮游动物牧食的结果?关于这个问题,Yang^[3]等研究了桡足类 *Eudiaptomus raciloides*,枝角类 *D. magna* 和轮虫 *Brachionus calyciflorus* 对太湖铜绿微囊藻的直接摄食作用,但铜绿微囊藻都没有形成如太湖野外的微囊藻群体.本研究以太湖蓝藻水华暴发期间的优势种角突网纹溞作为研究对象,以研究角突网纹溞对太湖 3 种优势微囊藻的直接牧食作用是否会促使微囊藻群体形成,目前国内外未见这样的研究报道.

在另外一个实验中,将水华微囊藻 1028、惠氏微囊藻 929、铜绿微囊藻 469 和铜绿微囊藻 905 培养在一种改良后的 BG-11 培养基(TN=10mg/L, TP=0.4mg/L)中培养 12d.结果表明,水华微囊藻形成了类似于野外的大群体微囊藻(投稿中).因此,继续使用这种改良后的 BG-11 培养基.

本实验的目的有 2 个:(1)研究在角突网纹溞的摄食压力下,太湖 3 种优势微囊藻包括水华微囊藻、惠氏微囊藻、铜绿微囊藻是否能形成大群体;(2)研究角突网纹溞的摄食压力在微囊藻形成群体中的作用.

1 材料和方法

1.1 实验设计和方法

3 种微囊藻,包括水华微囊藻 1028、惠氏微囊藻 929、铜绿微囊藻 469 和铜绿微囊藻 905 由中国科学院水生生物研究所提供.所有藻种培养在改良的 BG-11 培养基中(TN=10mg/L, TP=0.4mg/L),然后用 1.5L 的锥形瓶培养在培养箱中,温度为 25℃,光照强度为 30 μ mol/(m²·s),光照周期为光照:非光照=12:12h.

为了测定 3 种微囊藻对角突网纹溞的摄食压力的可能形态反应,各取 100ml 3 种微囊藻转入 250ml 的锥形瓶中,接着按 200ind./L 的密度加入角突网纹溞(0.40 $\pm$ 0.05mm),对照组不加入角突网纹溞,每个实验和对照都进行 3 个重复.

每个锥形瓶每天摇一次.样品 2d 取一次,并用鲁哥氏液固定保存.整个实验共进行 12d.在显微镜下对藻的细胞密度进行计数.计数藻类密度时采用视野法,计数单个群体细胞数时,至少计数 50 个群体细胞.

1.2 统计方法

使用配对 *t*-test 来检测每种藻对照组和实验组之间在单位群体的细胞数是否存在显著不同;以及每种藻对照组和实验组在单细胞、2 细胞和小群体和大群体是否存在显著不同.所有实验的数据都采用 SPSS12.0 应用程序进行分析.

2 结果

3 种微囊藻对照组和实验组的密度在整个实验期间都增长(图 1).3 种微囊藻密度在对照组和实验组之间没有显著的差别(表 1, $P>0.05$).除了在水华微囊藻实验组以外,其他藻类的实验组中角突网纹溞从实验第 2d 开始死亡,到实验结束,所有角突网纹溞全部死亡.

除了水华微囊藻 1028 以外,在惠氏微囊藻 929、铜绿微囊藻 469 和铜绿微囊藻 905 实验组和对照组

中没有观察到大群体(大于 10 个细胞)出现(图 1). 在整个实验期间, 水华微囊藻对照组和实验组都发现有 大群体形成 (图 1a, 1b). 水华微囊藻实验组和对照组单细胞、2 细胞、小群体和大群体数量存在显著的不同(表 1, $P<0.05$). 除了铜绿微囊藻 469 实验组和对照组在单细胞存在显著差异外, 其它藻包括惠氏微囊藻 929 和铜绿微囊藻 905 在单细胞、2 细胞、小群体和大群体数量不存在显著的差别(表 1, $P>0.05$). 水华微囊藻对照组和实验组中大群体细胞占总细胞比例上存在显著的不同, 其中对照组占总细胞比例为 22%, 而实验组占 53%(图 2a, 2b). 铜绿微囊藻 469 和铜绿微囊藻 905 对照组和实验组中绝大部分都是单细胞, 而惠氏微囊藻则由单细胞和 2 细胞占绝大部分(图 2c, 2d).

图1 3种微囊藻对照组和实验组细胞密度随时间变化
(小群体: 3-10个细胞, 大群体: 大于10个细胞)

Fig.1 Changes of cell density of three species of *Microcystis* in controls and treatments
(Small colony: 3-10 cells, large colony: above 10 cells)

表 1 3 种微囊藻对照组和实验组之间不同类型的细胞密度的 *t*-test 检验结果
Tab.1 Result of paired *t*-test for density of different units in three species of *Microcystis*
in controls and treatments

种类	单细胞		2 细胞		小群体 (3-10 细胞)		大群体 (大于 10 细胞)		总密度	
	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
铜绿微囊藻 905	-1.341	0.195	-0.852	0.404					-1.448	0.163
铜绿微囊藻 469	2.283	0.033	-0.089	0.930					2.069	0.052
惠氏微囊藻 929	1.439	0.166	-1.949	0.065	-0.834	0.414			1.051	0.306
水华微囊藻 1028	4.962	0.000	4.070	0.001	3.917	0.001	-2.419	0.025	0.828	0.418

实验第 6-12d, 水华微囊藻对照组和试验组单位大群体细胞数量存在显著差异(表 2, $P<0.05$)(图 3). 而在实验第 0-4d, 水华微囊藻对照组和试验组单位大群体细胞数量不存在显著差异(表 2, $P>0.05$)(图 3). 在我们的实验中, 水华微囊藻对照组和实验组群体的大小以及单位群体细胞数量都与野外的微囊藻群体相似. 对照组中, 水华微囊藻群体长度最大直径为 1.5mm; 而实验组中, 水华微囊藻群体长度最大直径为 2mm. 水华微囊藻对照组和试验组中出现的群体其细胞结合紧密.

表 2 在 12d 的实验中对水华微囊藻对照组和实验组单位群体
细胞数在不同时间内的 *t*-test 检验结果
Tab.2 Result of paired *t*-tests (in different time periods) for number of cells per large colony (above10 cells)
of *M. flos-aquae* in controls and treatments during 12 days

种类	0-4d		6-12d		0-12d	
	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
水华微囊藻 1028	-0.318	0.752	-2.988	0.005	-2.657	0.010

3 讨论

如我们所了解的, 浮游动物的摄食是引起浮游植物死亡的重要外界因素, 浮游植物通过进化各种防御机制从而增加了它们存活的机会. 在有机体中有 2 种最普遍的防御策略, 一种是固有防御, 即其防御行为的产生不需要外界因子的刺激; 另外一种叫诱导防御, 即防御行为的产生需要外界因素的刺激才能产生^[9]. 在浮游植物各种抗摄食防御策略中, 包括细胞形态^[10], 化学成份如毒素^[11], 凝胶状物质, 群体的形成和丝状结构等防御策略. 实验中, 在没有浮游动物的对照组中发现有大群体的水华微囊藻, 同时在有浮游动物的实验组中也发现有大群体的水华微囊藻. 因此, 水华微囊藻形成群体可能是浮游植物固有防御的一种形式.

水华微囊藻实验组和对照组在单细胞、2 细胞、小群体和大群体数量存在显著的不同. 可以被浮游动物所摄食的单细胞浮游植物, 大部分浮游动物能摄食这些单细胞浮游植物的大小范围在 5-50 μm ^[12-13]. 单细胞水华微囊藻的直径为 5-6 μm . 所以, 角突网纹溞以单细胞、2 细胞和小群体水华微囊藻作为食物是完全有可能的; 而大群体的(大于 10 个细胞)水华微囊藻直径超过了浮游动物所能摄食的最大颗粒. 角突网纹溞对单个体、2 细胞和小群体的选择性摄食促进了水华微囊藻大群体的生长, 这可能是水华微囊藻对照组和实验组结果不同的重要原因.

图2 3种微囊藻对照组和实验组不同细胞所占比例随时间变化
(小群体: 3-10个细胞, 大群体: 大于10个细胞)

Fig.2 Changes of cells proportion of different units of three species of *Microcystis* in controls and treatments
(Small colony: 3-10 cells, large colony: above 10 cells)

图3 水华微囊藻对照组和实验组单位群体细胞数随时间变化
(大群体: 大于10个细胞)

Fig.3 Changes of mean number of cells per large colony of *M. flos-aquae* in controls and treatments
(Large colony: above 10 cells)

本实验中,除了在水华微囊藻实验组以外,惠氏微囊藻 929、铜绿微囊藻 469 和铜绿微囊藻 905 实验组和对照组中角突网纹溞从实验第 2d 开始死亡,到实验结束,所有角突网纹溞全部死亡. Yang^[3]等研究了桡足类 *Eudiaptomus raciloides*, 枝角类 *D. magna* 和轮虫 *Brachionus calyciflorus* 对太湖铜绿微囊藻的直接摄食作用,浮游动物从实验第 2d 开始死亡,到实验结束浮游动物全部死亡. 由于不同品系的微囊藻特性不同,其对浮游动物的影响也不同. De Bernardi^[14]等研究发现,某一品系的微囊藻的单细胞或小群体可以作为 *Daphnia obtusa* 和 *D. hyalina* 的食物,其生长和繁殖与用栅藻作为食物的情况下类似. 有些微囊藻种类则不一样,有研究表明微囊藻 PCC7820 能降低蚤状溞的怀卵量,即便添加了其它食物对提高怀卵量亦无显著影响^[15]. De Mott^[16]用不同比例的铜绿微囊藻 PCC7806 和栅藻的混合物评价了对 5 种枝角类的生长和繁殖的影响,发现每雌怀卵量和种群增长率一般随微囊藻比例的增加而减少,但微囊藻的比例为 100%时,所有个体都不怀卵. 本研究中,水华微囊藻 1028 为无毒种,所以可以作为角突网纹溞的食物,而惠氏微囊藻 929 和铜绿微囊藻 905 都为有毒种,所以实验结束角突网纹溞都发生死亡. 有研究将浮游动物与无毒的微囊藻一起培养,发现原来无毒的微囊藻毒性明显增强^[11],本研究中铜绿微囊藻 469 虽然为无毒种,也有可能角突网纹溞的存在促使铜绿微囊藻 469 毒性增强,从而使角突网纹溞最终死亡.

实验中,水华微囊藻对照组和实验组形成的群体大小以及单位群体细胞数量都与野外的微囊藻水华相似. 惠氏微囊藻 929、铜绿微囊藻 469 和铜绿微囊藻 905 在浮游动物的摄食压力下没有群体的出现. 结果表明水华微囊藻形成群体可能是浮游植物固有防御的一种形式;浮游动物的摄食压力促使水华微囊藻形成更大的群体.

致谢: 本实验得到了钱奎梅、邓建民、柯志新的大力帮助,谨致谢意!

4 参考文献

- [1] Reynolds CS, Jaworski G, Cmiech H *et al.* On the annual cycle of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* Kütz. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London -Biological Science*, 1981, **293**: 419-477.
- [2] Bolch CJS, Blackburn SI. Isolation and purification of Australian isolates of the toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* Kütz. *Journal of Applied Phycology*, 1996, **8**: 5-13.
- [3] Yang Z, Kong FX, Shi XL *et al.* Morphological response of *Microcystis aeruginosa* to grazing by different sorts of zooplankton. *Hydrobiologia*, 2006, **563**: 225-230.

- [4] Chen YW, Qin BQ, Teubner K *et al.* Long-term dynamics of phytoplankton assemblages: *Microcystis*-domination in Lake Taihu, a large shallow lake in China. *Journal of Plankton Research*, 2003, **25**(4): 445-453.
- [5] 杨桂军. 浮游植物对营养盐和浮游动物胁迫的响应研究[学位论文]. 南京: 中国科学院南京地理与湖泊研究所, 2008.
- [6] Cao HS, Kong FX, Tan JK *et al.* Recruitment of total phytoplankton, chlorophytes and cyanobacteria from lake sediments recorded by photosynthetic pigments in a large, shallow lake (Lake Taihu, China). *International Review of Hydrobiology*, 2005, **90**: 345-355.
- [7] Lüring M, Van Donk E. Morphological changes in *Scenedesmus* induced by infochemicals released in situ from zooplankton grazers. *Limnology & Oceanography*, 1997, **42**: 783-788.
- [8] Lüring M. Effect of grazing-associated infochemicals on growth and morphological development in *Scenedesmus acutus* (Chlorophyceae). *Journal of Phycology*, 1998, **34**: 578-586.
- [9] Tollrian R, Harvell CD. The ecology and evolution of inducible defenses. *Quarterly Review of Biology*, 1990, **65**(3): 323-340.
- [10] Hessen DO, van Donk E. Morphological changes in *Scenedesmus* induced by substances released from *Daphnia*. *Archiv für Hydrobiologie*, 1993, **127**: 129-140.
- [11] Jang MH, Ha K, Joo GJ *et al.* Toxin production of cyanobacteria is increased by exposure to zooplankton. *Freshwater Biology*, 2003, **48**: 1540-1550.
- [12] Ruttner-Kolisko A. Plankton rotifers. Die Binnengewässer Bd., 1974, **26**: 1-146.
- [13] Dodoson S, Frey DG. Cladocera and other branchiopoda. In: Thorp JH, Covich A eds. Ecology and classification of North American freshwater invertebrates. Academic Press, 1991: 732-776.
- [14] De Bernardi R, Giussani G. Are blue-green algae a suitable food for zooplankton? An overview. *Hydrobiologia*, 1990, **200/201**: 29-41.
- [15] Reinikainen M, Kotola M, Jantunen M *et al.* Effects of *Microcystis aeruginosa* exposure and nutritional status on the reproduction of *Daphnia pulex*. *Journal of Plankton Research*, 1995, **17**: 341-346.
- [16] De Mott WR. Foraging strategies and growth inhibition in five daphnids feeding on mixtures of a toxic cyanobacterium and a green alga. *Freshwater Biology*, 1999, **42**: 263-274.