

东海原甲藻对中肋骨条藻的他感作用初探

陈玖玖^{1,2}, 赵卫红¹

(1. 中国科学院 海洋研究所 海洋生态与环境科学重点实验室, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院 研究生院, 北京 100049)

摘要: 在实验室内将不同生长期的东海原甲藻 (*Prorocentrum donghaiense* Lu) 培养液滤液用切向超滤技术分级处理后, 培养中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*), 发现东海原甲藻的滤液对中肋骨条藻的生长具有促进作用, 不同生长期的东海原甲藻分泌物在粒径 100 ku ~ 0.45 μm 的培养液中对中肋骨条藻的促进作用最明显, 表明东海原甲藻可以产生大小不同的可促进中肋骨条藻生长的他感物质, 且在 100 ku ~ 0.45 μm 范围含量较大。东海原甲藻对中肋骨条藻的生长促进作用在不同生长期作用强度不同, 促进作用最明显的是消亡期, 其次为平台期, 指数生长期的藻液是 3 种藻液中促进作用最小的。

关键词: 他感作用; 东海原甲藻 (*Prorocentrum donghaiense* Lu); 中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*); 胶体

中图分类号: X145

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2007)04-0062-06

他感作用 (Allelopathy) 是指植物或微生物通过向环境释放某些化学物质, 而对周围其它生物生长产生影响的现象^[1~3]。有研究表明, 浮游植物排泄的胞外有机物在浮游植物间的他感作用是影响浮游植物演替的一个重要因子^[4]。Keating^[5]曾报道, 藻青菌的有毒物质限制了硅藻的生长, 同样地, 已经发现一些鞭毛虫和腰鞭毛虫分泌的物质能限制与其共存的浮游生物种^[6,7]。在定鞭藻 (Haptophytes) 中, Myklestad 等^[8]发现 *Chrysochromulina polylepis* 产生的毒素和海洋硅藻之间有很强的他感作用。Schmidt 等^[9]也发现定鞭藻的 *Chrysochromulina polylepis* 对腰鞭毛虫 (*Heterocapsa triquetra*) 有很强的他感作用, 不过这种作用与 pH 值有关。

与资源竞争不同的是, 他感作用依赖于生物向环境中释放的某种化学物质浓度的增加, 可被认为是种间竞争的一种方式^[3]。这种相互作用在生物之间广泛存在, 从高等植物到中型和微型藻类, 甚至到细菌和病毒。在浮游植物中, 已经有很多关于蓝藻、甲藻、绿藻、鞭毛藻和硅藻对其它微藻和细菌有抑制作用的报道^[10,11], 但与陆地植物相比, 有关微藻他感作用的报道很少。蓝藻的他感作用研究最早开始于 19 世纪初, 到了 20 世纪 30 年代, 研究者认为蓝藻毒素的他感作用是控制蓝藻种群演替的一个因素^[2]。现在, 对一些蓝藻的他感化学物质已经进行了分离和定性^[12]。

近年来, 随着我国农业生产的加速发展, 海洋富营养化程度日益加剧。特别是在东海海区, 由于长江入海所带来的大量营养盐类, 形成了长江口特殊的富营养化环境, 因此赤潮发生频率亦高于其他海区^[13]。中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*) 和东海原甲藻 (*Prorocentrum donghaiense* Lu) 是该海区的两个主要赤潮藻种, 尤其是东海原甲藻^[16,17], 自 20 世纪 90 年代后期以来几乎每年春季都发生赤潮^[13]。为了研究两种赤潮生物暴发机理、两种生物间的相互作用以及其它理化因子对其暴发赤潮的影响, 近几年来开展了很多研究工作^[13~15]。

目前, 对赤潮发生机理及赤潮爆发后生物种群间演替的研究重点主要是对温度、营养盐等外界环境及理化因子的分析, 而对生物间相互作用的研究报道很少。浮游生物学家的自然生态观察和实验生态研究

收稿日期: 2005-12-26; 修回日期: 2006-04-16

基金项目: 国家“973”计划项目 (2001CB409703); 国家自然科学基金项目 (40106013); 国家“863”计划青年基金项目 (2004AA639790); 青岛市自然科学基金项目 (04-2-JZ-88)

作者简介: 陈玖玖 (1979-), 女, 山东临朐人, 硕士, 主要从事赤潮发生过程中的浮游植物数量和种群演替研究, 电话: 0532-82898917, E-mail: chenmeimei @ms. qdio. ac. cn; 赵卫红, 通讯作者, 研究员, 博士生导师, E-mail: whzhao @ms. qdio. ac. cn

表明,某些浮游生物分泌的代谢产物对其他浮游生物的生长、繁殖有抑制或促进作用,而这些种间生化关系在群落的种类交替或数量变动中起着一定的作用。例如:小球藻能分泌一种叫小球藻素的抗生素来抑制菱形藻的生长;多甲藻能分泌一种抗生素抑制栅藻和杜氏藻的生长;骨条藻的滤液能促进黄藻类滑盘藻的生长,而在滑盘藻增殖的滤液中,骨条藻明显受到抑制^[18]。Honjo^[19]研究表明,当赤潮异湾藻藻液中的他感物质达到一定浓度时可以抑制中肋骨条藻的生长,却促进三角原甲藻和其本身的生长。

针对以上提到的浮游生物间的生化相互作用现象以及目前对两种赤潮生物爆发机理的研究现状,作者在实验室内将不同生长时期的东海原甲藻滤液利用切向超滤技术进行分级处理分别得到 100 ku ~ 0.45 μm, 10 ~ 100 ku, 1 ~ 10 ku 的截留液和 < 1 ku 的超滤液后,分别培养中肋骨条藻,观察东海原甲藻不同生长时期不同粒级的细胞分泌物对中肋骨条藻生长的影响,以期能为进一步研究东海原甲藻和中肋骨条藻之间的生化相互作用以及赤潮爆发过程中的种群演替内部原因提供一定的实验基础。

1 材料与方法

1.1 东海原甲藻的培养

东海原甲藻藻种取自于中国科学院海洋研究所生态与环境科学重点实验室藻种库。在光照培养架上用 f/2 培养基^[20]培养东海原甲藻,培养体积为 30 L,培养温度为 23 ℃,光暗比为 12 h : 12 h。

1.2 东海原甲藻培养液的过滤和超滤

分别在东海原甲藻的指数生长期、平台期和消亡期各取培养液 10 L 经 0.45 μm 醋酸纤维滤膜过滤,得到预滤液,预滤液用 Pall Filtron Corporation 的 Ultraslab TM 切向超滤系统分别经过 100, 10, 1 ku 的超滤膜超滤,分别得到 3 组含不同粒级大小的胶体截留液(100 ku ~ 0.45 μm, 10 ~ 100 ku, 1 ~ 10 ku)和 < 1 ku 的超滤液,浓缩系数均为 10。每次超滤后,按照海洋监测规范,测定 < 1 ku 超滤液中 NO₃⁻-N + NO₂⁻-N, NH₄⁺-N, SiO₃²⁻-Si 和 PO₄³⁻-P 四项营养盐指标,所用方法分别为:镉柱还原法、次溴酸盐氧化法、硅钼蓝法和磷钼蓝分光光度法。

1.3 中肋骨条藻的培养

在上述营养盐测定的基础上,用未培养东海原甲藻的海水作空白,分别取 3 个生长时期所得的 < 1 ku 超滤液和 3 组截留液及空白海水(对照)各 100 mL 于 300 mL 透明 PET 瓶中,加入一定营养盐,使各组培养液的浓度与第一期测定的营养盐浓度相

同,分别培养中肋骨条藻,藻种与培养液体积比为 1/100,并且每个培养设一组平行样。培养在光照培养架上进行,培养温度为 23 ℃,光暗比为 12 h : 12 h,每天定时从每个培养瓶中取样,用分光光度计测定各培养系列的藻密度。

2 结果与讨论

2.1 不同粒级的东海原甲藻藻液对中肋骨条藻的他感作用

图 1 的实验数据点显示中肋骨条藻在各培养液中的生长曲线呈 S 型,且开始生长较为缓慢。在前几天的培养过程中中肋骨条藻在所有藻液中的生长都明显好于在空白海水中的生长状况,这说明东海原甲藻的藻液对中肋骨条藻的生长具有一定的促进作用。

目前主要采用 Mitschelich, Brod, Bertalanffy, Gompertz, Logistic 等生长模型来描述“S”型生长曲线,但由于它们具有固定的拐点,都只能准确描述一种特定形状的 S 曲线^[21]。其中 Logistic 生长模型(如(1)式所示)适用于描述缓慢生长期长的生长过程^[22,23]。因此作者利用该生长模型描述中肋骨条藻早期的生长状况。

$$B_t = \frac{B_f}{1 + \frac{B_f - B_0}{B_0} \frac{-\mu_{\max} \cdot t}{B_f}} \quad (1)$$

其中, B_t 为 t 时刻的生物量(10^7 个/L), B_0 为起始生物量(10^7 个/L), B_f 为终止生物量(10^7 个/L), μ_{\max} 为最大生长速率(10^7 个/(L·d))。根据 Logistic 生长模型,应用非线性拟合技术对中肋骨条藻的早期的生长曲线(图 1)进行非线性拟合。拟合结果相关系数 $R^2 = 0.94 \sim 0.99$, 表明 Logistic 生长模型可以很好地描述中肋骨条藻早期的生长曲线。根据拟合结果得到其生长参数 B_f 及其误差范围 $\pm B_f$ 和最大生长速率 μ_{\max} 及其误差范围 $\pm \mu_{\max}$ (表 1, 2, 3)。

由中肋骨条藻的最大生长速率 μ_{\max} (表 1, 2, 3) 可以很明显地看出东海原甲藻的藻液对中肋骨条藻的生长有促进作用。并且在所有的藻液培养中,中肋骨条藻从第二天开始均呈现明显的指数增长。

在三个时期不同粒级的东海原甲藻培养液中,中肋骨条藻在 100 ku ~ 0.45 μm 的截留液中的最大生长速率均是最大的,分别为 41.20×10^7 , 45.21×10^7 和 78.62×10^7 个/(L·d),其最大生物量很明显地高于其它粒级的培养液,分别为 124.75×10^7 , 160.14×10^7 和 196.89×10^7 个/(L·d),可以看出,大胶体(100 ku ~ 0.45 μm)截留液对中肋骨条藻的生长促进作用比较明显。

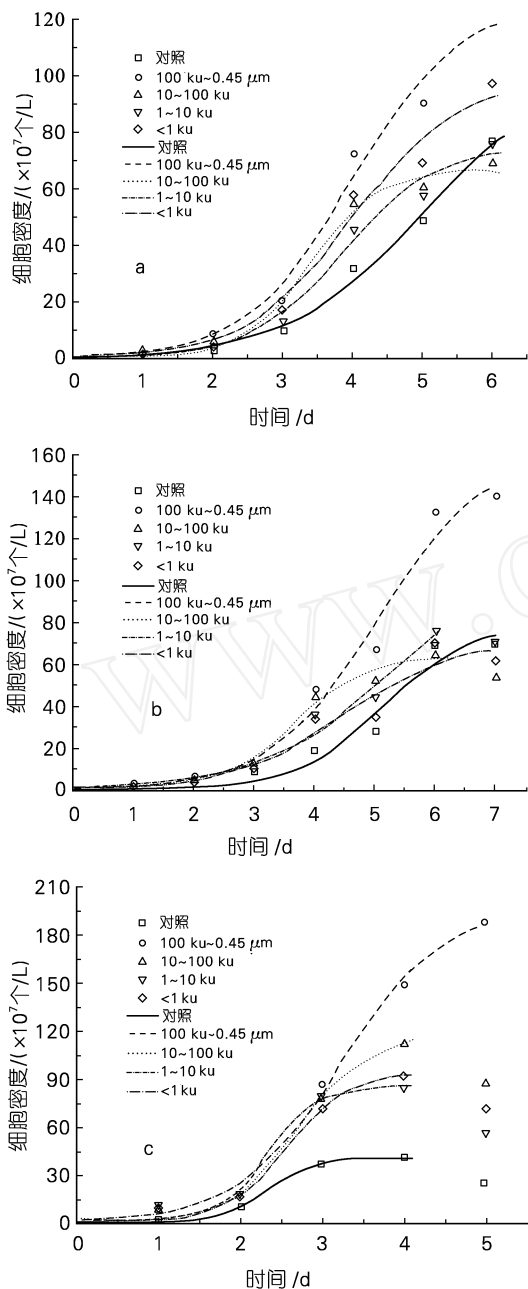


图1 不同生长时期的东海原甲藻滤液中中肋骨条藻的生长曲线

Fig.1 Growth curves of *Skeletonema costatum* in the cell-free filtrates of *Prorocentrum donghaiense* in the different growth phases

a. 指数生长期; b. 平台期; c. 消亡期; 图中点为实验数据点, 曲线为 Logistic 模拟曲线

a: exponential growth phase; b: stationary phase; c: decay phase; The dots are experiment data, the curves are simulate curves by Logistic

表1 东海原甲藻指数生长期藻液中中肋骨条藻的最大生长速率 μ_{max} ($\times 10^7$ 个/(L·d)) 和终止生物量 B_f ($\times 10^7$ 个/L)

Tab.1 The μ_{max} ($\times 10^7$ cell/(L·d)) and B_f ($\times 10^7$ cell/L) of *Skeletonema costatum* in different cell filtrates of *Prorocentrum donghaiense* Lu in the exponential growth phase

| 培养液粒级 | μ_{max} | $\pm\mu_{max}$ | B_f | $\pm B_f$ | R^2 |
|-----------------------------|-------------|----------------|--------|-----------|-------|
| 对照 | 26.02 | 2.12 | 100.34 | 17.46 | 0.99 |
| 100 ku ~ 0.45 μm | 41.20 | 7.03 | 124.75 | 12.96 | 0.98 |
| 10 ~ 100 ku | 34.85 | 6.63 | 65.99 | 3.21 | 0.99 |
| 1 ~ 10 ku | 28.01 | 4.96 | 74.73 | 6.07 | 0.99 |
| <1 ku | 31.91 | 5.99 | 99.31 | 12.17 | 0.98 |

表2 东海原甲藻平台期藻液中中肋骨条藻的最大生长速率 μ_{max} ($\times 10^7$ 个/(L·d)) 和终止生物量 B_f ($\times 10^7$ 个/L)

Tab.2 The μ_{max} ($\times 10^7$ cell/(L·d)) and B_f ($\times 10^7$ cell/L) of *Skeletonema costatum* in different cell filtrates of *Prorocentrum donghaiense* in the stationary phase

| 培养液粒级 | μ_{max} | $\pm\mu_{max}$ | B_f | $\pm B_f$ | R^2 |
|-----------------------------|-------------|----------------|--------|-----------|-------|
| 对照 | 20.57 | 4.18 | 68.05 | 9.76 | 0.97 |
| 100 ku ~ 0.45 μm | 45.21 | 6.91 | 160.10 | 19.90 | 0.98 |
| 10 ~ 100 ku | 26.52 | 5.26 | 63.81 | 4.60 | 0.99 |
| 1 ~ 10 ku | 25.12 | 5.25 | 110.45 | 52.10 | 0.97 |
| <1 ku | 43.42 | 11.10 | 261.30 | 816.00 | 0.96 |

表3 东海原甲藻消亡期藻液中中肋骨条藻的最大生长速率 μ_{max} ($\times 10^7$ 个/(L·d)) 和终止生物量 B_f ($\times 10^7$ 个/L)

Tab.3 The μ_{max} ($\times 10^7$ cell/(L·d)) and B_f ($\times 10^7$ cell/L) of *Skeletonema costatum* in different cell filtrates of *Prorocentrum donghaiense* in the decay phase

| 培养液粒级 | μ_{max} | $\pm\mu_{max}$ | B_f | $\pm B_f$ | R^2 |
|-----------------------------|-------------|----------------|--------|-----------|-------|
| 对照 | 36.90 | 3.46 | 40.12 | 0.79 | 0.99 |
| 100 ku ~ 0.45 μm | 78.62 | 9.60 | 196.89 | 12.66 | 0.99 |
| 10 ~ 100 ku | 68.11 | 11.40 | 118.97 | 8.83 | 0.99 |
| 1 ~ 10 ku | 70.98 | 25.84 | 85.10 | 7.53 | 0.98 |
| <1 ku | 60.06 | 12.75 | 94.08 | 7.74 | 0.99 |

东海原甲藻滤液对中肋骨条藻生长的促进作用说明东海原甲藻能够产生可以促进中肋骨条藻生长的他感物质。不同粒级的滤液对中肋骨条藻的生长促进存在着明显差异表明这种他感物质存在某一粒级范围内或者在这一范围内的含量较大。在本实验中,中肋骨条藻在培养过东海原甲藻的各级滤液中生长情况均比在未培养过东海原甲藻的空白海水中的好,说明他感物质可以分布在各个粒级。三个不同生长时期的滤液中均是在 $100\text{ ku} \sim 0.45\ \mu\text{m}$ 的截留液中生长状况最好,表明东海原甲藻产生的这种他感物质大小在 $100\text{ ku} \sim 0.45\ \mu\text{m}$ 之间含量较大。而这种他感物质的性质和含量还有待于进一步的分析。

2.2 东海原甲藻不同生长时期的滤液对中肋骨条藻的他感作用

由表 1,2,3 可以看出,中肋骨条藻在东海原甲藻消亡期各粒级藻液的最大生长速率都明显高于指数生长期和平台期。

将东海原甲藻不同生长时期的 $100\text{ ku} \sim 0.45\ \mu\text{m}$ 的截留液培养的中肋骨条藻的生长状况进行比较发现(图 2),中肋骨条藻在消亡期的 $100\text{ ku} \sim 0.45\ \mu\text{m}$ 的截留液中生长速率和藻密度明显高于指数生长期和平台期,而在指数生长期和平台期的培养中,前 5 天,中肋骨条藻在指数期的 $100\text{ ku} \sim 0.45\ \mu\text{m}$ 的截留液中生长速率和藻密度都高于平台期,但从第 6 天开始平台期的生长速率和藻密度却高于指数期,最后峰值的中肋骨条藻的最大藻密度也是平台期明显高于指数生长期。

在 $100\text{ ku} \sim 0.45\ \mu\text{m}$ 范围内的截留液中中肋骨条藻在指数生长期、平台期和消亡期的最大生长速率(μ_{max})分别为 41.20×10^7 , 45.21×10^7 和 78.62×10^7 个/(L·d),最大藻密度(B_t)分别为 124.75×10^7 , 160.14×10^7 和 196.89×10^7 个/L,说明消亡期的藻液对中肋骨条藻的生长有明显的促进作用,其次为平台期,再次为指数生长期。

Vance^[24]的研究表明,生物体内的他感物质在指数生长期就会释放到环境中,而不仅仅在消亡期的细胞死亡分解后。生物对他感作用的敏感性依赖于

环境中他感物质的浓度,随着浮游植物的生长,它向环境中释放的他感物质的量也会不断增加,特别是到了消亡期随着细胞的死亡和分解,滤液中的化学物质会大量增加,对其它浮游植物的影响作用也是最明显的^[25],本实验的实验结果与其现象相一致。

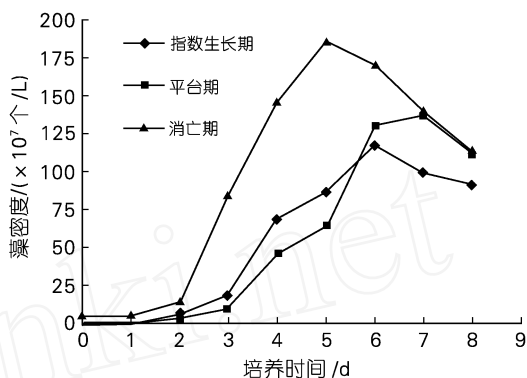


图 2 东海原甲藻不同生长时期 $100\text{ ku} \sim 0.45\ \mu\text{m}$ 滤液对中肋骨条藻生长的影响

Fig. 2 Growth curves of *Skeletonema costatum* in different growth phase cell filtrates ($100\text{ ku} \sim 0.45\ \mu\text{m}$) of *Prorocentrum donghaiense*

3 结论

由本实验现象可以初步判断:东海原甲藻的滤液对中肋骨条藻的生长有促进作用,将滤液按不同粒级超滤后分别培养中肋骨条藻,进一步发现,粒级 $100\text{ ku} \sim 0.45\ \mu\text{m}$ 的培养液中,中肋骨条藻的生长速率和藻密度均最高,表明东海原甲藻滤液中含有促进中肋骨条藻生长的他感物质,这种物质分布在各个粒级范围,但在 $100\text{ ku} \sim 0.45\ \mu\text{m}$ 之间含量较大。不同生长期东海原甲藻产生的他感物质的作用效果不同,将三个时期中促进作用最明显的 $100\text{ ku} \sim 0.45\ \mu\text{m}$ 截留液中中肋骨条藻的生长状况进行比较发现,随着东海原甲藻的生长其产生的他感物质也不断增加,对中肋骨条藻生长的促进作用也更加明显,强弱顺序为消亡期 > 平台期 > 指数生长期。

参考文献:

- [1] Molisch H. Der Einfluss einer Pflanze auf die andere: Allelopathie[M]. Jena: Gustav Fisher Verlag, 1937.

- 106.
- [2] Rice E L. Allelopathy[M]. 2nd ed. New York: Academic Press, 1984. 422.
- [3] Begon M, Harper J L, Townsend C R. Ecology. Individuals, Populations and Communities[M]. 3rd ed. Oxford: Blackwell, 1996.
- [4] Keating K I. Blue-green algal inhibition of diatom growth: transition from mesotrophic to eutrophic community structure[J]. *Science*, 1978, 199: 971-973.
- [5] Keating K I. Allelopathic influence on blue-green bloom sequence in a eutrophic lake[J]. *Science*, 1977, 196: 885-887.
- [6] Pratt D M. Competition between *Skeletonema costatum* and *Olisthodiscus luteus* in Narragansett Bay and in culture[J]. *Limnol Oceanogr*, 1966, 11:447-455.
- [7] Tillman U, John W. Toxic effects of *Alexandrium* spp. On heterotrophic dinoflagellates: an allelochemical defence mechanism independent of PSP-toxin content[J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 2002, 230:47-58.
- [8] Myklesstad S M. Production of carbohydrates by marine planktonic diatoms: Influence of the N/P ratio in the growth medium on the assimilation ratio, growth rate, and production of cellular and extracellular carbohydrates by *Chaetoceros affinis* var. *willei* (Gran) Hustedt and *Skeletonema costatum* (Grev.) [J]. *Cleve J Exp Mar Biol*, 1977, 29:161-179.
- [9] Schmidt L E, Hansen P J. Allelopathy in the prymnesiophyte *Chyroschromulina polylepis*: effect of cell concentration, growth phase and pH [J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 2001, 216: 67-81.
- [10] Maestrini S Y, Bonin D J. Allelopathic relationships between phytoplankton species [J]. *Can Bull Fish Aquati Sci*, 1981, 210: 323-338.
- [11] Legrand C, Rengefors K, Fistarol G O, *et al.* Allelopathy in phytoplankton-biochemical, ecological, and evolutionary aspects[J]. *Phycologia*, 2003, 42 (4): 70-83.
- [12] Smith G D, Doan N T. Cyanobacterial metabolites with bioactivity against photosynthesis in cyanobacteria, algae and higher plants [J]. *J Appl Phycol*, 1999, 11: 337-344.
- [13] 李瑞香,朱明远,王宗灵,等. 东海两种赤潮生物种间竞争的围隔实验[J]. *应用生态学报*, 2003, 1(7): 1 049-1 054.
- [14] 王金辉. 东海赤潮生物具齿原甲藻及其特征[J]. *浙江海洋学院学报*, 2003, 22(2):129-131.
- [15] 王金辉,黄秀清. 具齿原甲藻的生态特征及赤潮成因浅析[J]. *应用生态学报*, 2003, 14(7):1 065-1 069.
- [16] 陆斗定,齐雨藻, Jeanette Goeble,等. 东海原甲藻修订及与相关原甲藻的分类学比较[J]. *应用生态学报*, 2003, 14(7):1 060-1 064.
- [17] 齐雨藻,王艳. 我国东海赤潮原甲藻应属哪种[J]. *应用生态学报*, 2003, 14(7):1 188-1 190.
- [18] 沈国英,施并章. 海洋生态学[M]. 北京:科学出版社, 2002. 147-148.
- [19] Honjo T. Overview on bloom dynamics and physiological ecology of *Heterosigma akashiwo*[A]. Smayda T J, Shimizu Y. Toxic Phytoplankton Bloom in the Sea [C]. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1993. 33-41.
- [20] Guillard R R. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates[A]. Smith W L, Chanley M H. Culture of Marine Invertebrate Animals [C]. New York: Plenum Press, 1975. 29-60.
- [21] 刑黎峰,孙明高,王元军. 生物生长的 Richards 模型[J]. *生物数学学报*, 1998, 13(3):348-353.
- [22] 王修林,张蕾,韩秀荣,等. 营养盐对海洋浮游植物生长的影响——数学模型研究[J]. *海洋科学进展*, 2002, 20(3):96-101.
- [23] 王修林,邓宁宁,祝陈坚,等. 磷酸盐、硝酸盐组成对海洋赤潮藻生长的影响[J]. *中国海洋大学学报*, 2004, 34(3):453-460.
- [24] Vance B D. Composition and succession of cyanophycean water bloom[J]. *J Phycol*, 1965, 1: 81-86.
- [25] Suikkanen S, Fistarol G O, Graneli E. Allelopathic effects of Baltic cyanobacteria *Nodularia spumigena*, *Aphanizomenon flos-aquae* and *Anabaena lemmermannii* on algal monocultures[J]. *Journal of Experimental Marine and Ecology*, 2004, 308: 85-101.

Allelopathic effects of *Prorocentrum donghaiense* Lu on *Skeletonema costatum*

CHEN Mei-mei^{1,2}, ZHAO Wei-hong¹

(1. Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. The Graduate University, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Received: Dec. 26, 2005

Key words: allelopathy; *Prorocentrum donghaiense* Lu; *Skeletonema costatum*; colloid

Abstract: Cross-flow ultrafiltration had been used to isolate the colloidal matter from the cell-free filtrates of *Prorocentrum donghaiense* Lu in its different growth phases. Monocultures of *Skeletonema costatum* were exposed to the different size fraction retentates and ultrafiltrates of *P. donghaiense*. The results showed that cell-free filtrates of *P. donghaiense* positively influenced the growth of *S. costatum*, and the effects in the retentates of 100 ku ~ 0.45 μm were more intense. The phenomena implied that *P. donghaiense* could produce the allelopathic substances in various size ranges which could enhance *S. costatum*'s growth, but the amounts of the allelopathic substances in range of 100 ku ~ 0.45 μm were higher. The enhanced effects of *P. donghaiense* on *S. costatum* were different at different growth phases as follows, the decadency phase > the stationary phase > the exponential growth phase.

(本文编辑:张培新)