

赤潮科学中藻菌关系研究的若干进展*

ADVANCE IN THE RESEARCH ON INTERACTION BETWEEN RED TIDE ALGAE AND BACTERIA

连玉武¹ 王艳丽¹ 郑天凌² 洪华生²

(¹厦门大学生物系 361005)

(²厦门大学环境科学中心, 国家教委海洋生态环境开放研究实验室 361005)

水生生态系统中, 微型藻类与细菌的关系越来越引起人们的重视。细菌对藻类的影响主要体现在, 一方面细菌吸收藻类产生的有机物质, 并为藻类的生长提供营养盐和必要的生长因子, 从而调节藻类的生长环境; 另一方面细菌也可通过直接的或间接的作用抑制藻细胞的生长, 甚至裂解藻细胞, 从而表现为杀藻效应。而藻类对细菌也有相似的两方面作用。由于这些错综复杂的关系, 使人们在研究浮游植物水华和赤潮的发生、发展、衰落与消亡的机理时, 不能不考虑细菌的重要性, 其中细菌杀藻现象则为利用微生物防治赤潮提供了可能的途径。本文在近年来国内外有关研究的基础上, 就藻菌关系诸方面及赤潮的生物防治前景进行了综述。

1 藻菌关系

1.1 相互促进的共生系统

细菌广泛存在于藻类生活的水体和沉积物中, 是
1999 年第 1 期

生物地球化学循环的一个重要环节。细菌为浮游生物提供无机氮。在海洋深层, 硝化细菌通过硝化作用使氨态氮转化为硝态氮, 供浮游生物利用; 在混合层中, 细菌通过氨化作用产生的氨态氮是再生生产力的重要物质基础^[1]。除了无机氮, 细菌还为藻类的生长提供无机磷。有些细菌特有的高水平 5'-核苷酶可迅速水解 ATP 类的 5'-核苷酸并还原为无机磷, 而且产生无机磷的量与浮游植物无机磷的吸收密切相关。除此之外, 细菌还在其他元素的生物地球化学循环中起着重要作用。如细菌可把三价铁还原为易溶性的二价铁, 为藻类生长提供必需的铁元素。细菌还可以合成藻类必需的生理活性物质如维生素 B₁₂。而藻细胞的特殊代谢物也可促进某些细菌的生长繁殖。因此藻类和细菌常常共同生活于同一水环境中, 构成藻-菌共生系统。

* 国家自然科学基金资助项目 49676302, 39690011 号。

收稿日期: 1998-05-06; 修回日期: 1998-09-02

C. E. Riquelme 和 Y. Ishida 1989年研究了海水细菌和微型藻类的相互作用。他们发现,当海水发生硅藻 *Asterionella glacialis* 赤潮期间,细菌优势种群为假单胞菌 *Pseudomonas* 022,且细菌量与叶绿素浓度之间存在正相关关系。实验室研究发现,*A. glacialis* 的生长在外加 *P. 022*时受到显著促进。进一步研究发现 *P. 022*分泌的一类糖蛋白是促进 *A. glacialis* 生长的物质。而细菌 *P. 022*的生长也受到 *A. glacialis* 产生的细胞外有机碳,主要是溶解态氨基酸的促进。细菌和藻类之间的这种互惠互利关系,有时可达到相当专一的程度,甚至可称之为“细胞外共生”。例如固氮藻和它们的共生细菌就存在这种关系。在蓝藻细胞周围存在两类细菌。第一类是聚集在营养细胞周围的细菌。这些细菌在利用蓝藻固定的氮的同时,为蓝藻提供光合作用必需的 CO_2 、无机营养和一些生长因子。第二类是存在于异形胞周围,形态与第一类细菌不同的细菌。它们与异形胞有很强的亲和性,对 L-氨基酸产生正的趋化反应。它们靠趋化作用附着在异形胞和营养细胞的连接处,消耗氧气以提供还原性的环境,以维持固氮酶活性使固氮作用得以正常进行。Koranyi 等 1990年研究了人造的固氮藻-菌细胞外共生体。他们把固氮菌 *Azotobacter vinelandii* 和单细胞绿藻 *Chlamydomonas reinhardtii* 混合培养于没有碳水化合物也没有氮素的培养基上,进行了5 a的培养。他们得到了外貌绿色,营自养生活的细胞外共生体。实验表明,在这种细胞外共生体中,藻细胞进行光合作用而固氮菌可以固定大气中的氮,从而为共生体提供必须的碳和氮。观察其构造则发现,细菌分布在贴近藻细胞壁的细胞间隙中,有时则进入藻细胞质。在这种共生体中,固氮菌和绿藻细胞均可生长与分裂。Jean-Luc Mouget 等人发现^[2],*P. diminuta* 和 *P. vesicularis* 这两种专性需氧菌与藻类的共同培养可以促进微型绿藻 *Scenedesmus bicellularis* 和 *Chlorella* sp. 的生长,但是实验中没有发现细菌分泌任何促进生长的物质。

除以上情况外,还有一类关系更密切的藻菌共生形式即细胞内共生。细菌既可存在于藻细胞核中,也可存在于细胞质和细胞器。Silva 认为,内生细菌和藻细胞之间保持平衡的生长速率维持了二者之间的共存中。Silva 和 Franca 1985年发现甲藻染色体中的 DNA 纤丝似乎通过围绕于细菌周围的电子透明区域与细菌表面相联系,这意味着它们之间可能存在着遗传信息的交换;他们对内生细菌在藻细胞生长繁殖过程中的变化进行了研究,发现在甲藻的指数生长期,细菌主要限于细胞核内;进入稳定期后,核内的细

菌更加丰富,生长似乎不受外界环境的影响,并可通过类似于“反胞饮”的过程,离开细胞核游移到细胞质中形成一批由核被膜包围的细菌。然后,其中一些在细胞质中被消化掉,另外一些在细胞分裂时进入周围的培养基中。内生细菌在一些有毒赤潮藻类的毒素产生中起着一定的作用。Silva 和 Franca, Ogata 等研究产生麻痹性贝毒(PSP)的塔马亚历山大藻(*Alexandrium tamarense*)时发现,虽然不同的 *A. tamarense* 亚株来源于相同的亲细胞,且培养在相同的条件下,但它们的产毒量却有较大差别。因此,他们认为毒素的产生并非遗传物质所决定的,而是由生存在其细胞内的细菌产生的。经过进一步的研究,他们发现,在不同的甲藻种类,甚至是同一种甲藻中可以分离出不同类型的产毒素细菌;不同菌株可产生相同的毒素;同一种细菌生长在不同的营养环境中所产生的毒素量也不同。目前尽管人们对藻内生细菌有了初步了解,但对很多现象的解释还不够清楚,如共存的方式、维持的机制、内生的意义、产毒的意义等等,这些都需要进一步研究。

1.2 藻类抑菌作用

自养藻类可能分泌广谱的或特殊的抗生活性物质杀灭细菌。国内这方面的工作较多。郑天凌研究了藻类在模拟生态条件下对生活污水细菌死亡率的影响,以及它们的细胞抽提物的抗菌作用^[3],发现标志星杆藻(*Asterionella notata*)、小定鞭金藻(*Prymnesium parvum*)对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、粪链球菌(*Streptococcus faecalis*)、大肠菌群(*Coliform group*)以及细菌总数有很大的加速死亡作用和协同抗菌作用。小定鞭金藻及标志星杆藻的抽提物能在很低浓度下对多种细菌有不同程度的抑制作用,这种抑制作用在营养物质贫乏的环境中表现得更突出。郑天凌推测可能是藻细胞产生了某种抗生活性物质,这种物质对热不稳定,活力随陈放时间的增长而减低。其具体杀菌机理尚待进一步研究。

异养藻类可通过摄食作用捕杀细菌。M. Kirchner 等^[4]于1996年研究了夜光藻 *Noctiluca scintillans* 引发的赤潮期间的海洋菌群。发现 *N. scintillans* 在指数增长期可将水中的细菌和其他可食的有机体一并除去。而当冬季其他食物资源缺乏的情况下,*N. scintillans* 主要以捕食和消化细菌为主要食物来源,从而引起水体中细菌数目下降。

1.3 细菌杀藻现象

粘细菌可溶解很多种类的蓝藻。Shilo 1970年用几种从水塘中分离出来的粘细菌做溶藻实验。测试的10

种蓝藻中有8种被溶解。这8种藻是：单细胞的 *Anacystis nidulans*, *Cocochloris penyocystis*; 丝状的 *Nostoc* sp., *Plectonema boryanu*; 颤藻属的 *Oscillatoria prolifera*; 螺旋藻属的 *Spirulina platensis* 及 *S. tenuis*。但丝状的柱胞鱼腥藻 *Anabaena cylindrica* 及单粒两栖颤藻 *O. amphibia* 对粘细菌不敏感, 真核藻类对粘细菌也不敏感。Daft 等1975年的研究发现, 9种从废水中分离出的粘细菌可溶解鱼腥藻 *Anabaena*, 束丝藻 *Aphanizomenon*, 微囊藻 *Microcystis* 及颤藻 *Oscillatoria* 的不少种。关于溶藻机理, 则是粘细菌直接与宿主细胞接触, 通过分泌可溶解纤维素的酶而消化掉宿主的细胞壁, 进而逐渐溶解整个藻细胞。

M. Middelboe 等人^[5]研究富营养化的湖水发生的水华时发现, 随着水华的发展, 水体中细菌的细胞外分泌物的量增加一倍以上, 而细菌胞外酶的活性也有显著的增强。这表明细菌可能是通过细胞外分泌物和特殊的胞外酶而杀藻的。

假单胞菌 *Pseudomonas*, 杆菌 *Bacillus*, 蛭弧菌 *Bdellovibrio*, 黄杆菌 *Flavobacterium* sp. 和 *Saprospira* sp. 可分泌有毒物质释放于水环境中, 抑制某些藻类如甲藻和硅藻等的生长。已知铜绿假单胞菌 *P. aeruginosa* 可产生大量的抗生素类物质如扩散性吩嗪色素物质。这些物质对其他细菌和藻类都有抑制作用。最近有人从这种细菌中提取了几种特异性杀藻的抗生素物质, 其中有些物质如1-羟基吩嗪和氧氯菌素强烈抑制蓝藻和绿藻的生长。而 *P. stutzeri* 可分泌高活性的抑藻物质。这些物质是已知的对藻类杀伤力最强的细菌产物, 它可杀死顽固的赤潮藻类 *Chattonella antiqua*。Ishio 等从海洋污水中分离出了一种弧菌 *Vibrio alginifestus*, 它可分泌一种“甲藻生长抑制剂(DGI)”, 可杀死 *C. antiqua*, 不过其毒性不够稳定。从 *P. stutzeri* 中提取出的 DGI 不仅活性较前者高, 而且毒性较稳定(4℃时3个月保持不变), 并且对鱼类无害, 所以看来这是比较理想的杀藻物质。关于杀藻机理, 一般认为它通过作用于生理过程如阻断呼吸链、抑制细胞壁合成、抑制孢子的形成等方面, 以达到抑制藻细胞生长或杀灭藻细胞的结果。

细菌也可进入藻细胞内而溶藻, 但这是极其少见的事件。与细菌寄生在藻细胞的情况不同, 这种侵入引起了宿主细胞的自溶。有人从水华铜绿微囊藻中分离出一种类似蛭弧菌的细菌, 这种细菌能够进入铜绿微囊藻的细胞并使宿主细胞溶解。它首先分泌一种可溶解粘肽层的外毒素以消化宿主细胞壁的某些特定部位, 随后细菌的纤维多糖蛋白质复合体向外延伸,

形成一种功能类似“桥”的结构使细菌粘合到消化掉的细胞壁部位上。细菌经由这种“桥”结构进入宿主细胞内, 进而使宿主细胞的周质空间膨胀, 质膜增厚; 原生质收缩, 细胞结构崩溃, 质膜变薄断裂。溶解细胞的原生质中只剩下伪空泡, 但不久也破裂, 有的收缩为薄膜状物质, 最后仅残存破碎的细胞壁, 伪空泡及质膜碎片。宿主被溶解的过程中, 细菌立刻以多价裂殖方式在其周质空间繁殖大量的后代细菌, 释放出来迅速感染其他健康细胞。其侵染过程与噬菌体感染细菌在某种程度上有相似之处。作者推测, 铜绿微囊藻水华的迅速消失, 可能与这类细菌的专一性感染有关。

2 赤潮的微生物防治前景

2.1 微生物防治赤潮的意义

化学防治虽可迅速有效地抑制赤潮, 但所施用的化学药剂给海洋带来了新的污染。所以越来越多的人把目光投向了赤潮的生物防治方面。关于生物防治, 有人建议投放食植性海洋动物如贝类以预防或清除赤潮。这是一条有效的途径, 但不能不考虑到有毒赤潮的毒素会因此而富集在食物链中, 可能产生令人担忧的后果。而利用微生物如细菌的抑藻作用, 及其对藻类毒素的有效降解作用, 使海洋环境保持长期的可靠的生态平衡, 从而达到防治赤潮的目的, 就可以避免这类缺陷。这也是细菌防治独特的优越性。

2.2 以菌治藻必须考虑的因素

首先是杀藻作用与细菌的种属特异性有关。虽然细菌杀藻的现象普遍存在于淡水与海水中, 但有时又具有明显的种属特异性。深见公雄等研究细菌的抑藻作用时发现, 黄杆菌 *Flavobacterium* sp. 对裸甲藻 *Gymnodinium nagasakiense* 具有强烈的抑制和杀灭作用, 而对 *Chattonella*, *Heterosigma akashiwo* 和骨条藻 *Skeletonema costatum* 均无效。这表明该细菌对 *G. nagasakiense* 的杀灭作用是专一的。这种情况虽然没有更多的报道, 但无疑菌种选择对防治效果而言是关键所在。对不同藻类引起的赤潮, 要采用不同的细菌, 最合适的菌株应该是抑藻强烈而选择性高的种类, 并且对鱼类和其他动物无害。

第二个问题是关于投放细菌的量也即细菌密度。细菌抑藻有一定的阈值密度, 低于这个密度抑藻作用就不会发生。如 *Flavobacterium* sp. 抑制 *Gymnodinium nagasakiense*, 当细菌密度大于100 000时才会有明显杀藻作用。即使同样的细菌, 对不同藻类也有不同的阈值密度。如 Shigeki Sawayama 等研究细菌杀藻作用, 发

现一种革兰氏阴性菌 NT₄ 可抑制莱茵衣藻 *Chlamydomonas reinhardtii* 的接合反应。这种细菌也可抑制有毒甲藻 *Alexandrium catenella* 的休眠接合子结构,但需要的浓度是抑制莱茵衣藻的128倍。所以细菌的量要足够大才可产生预期的杀藻效果。

第三是细菌投放的时间。在赤潮发生和演替的过程中,自然菌群的组成也发生着巨大变化,对赤潮藻也有着不同的作用。如长崎裸甲藻 *Gymnodinium nagasakiense* 赤潮的开始阶段,菌群对其生长有促进作用,而赤潮消亡时期,则表现为抑制作用。若在赤潮已形成后的早期投放细菌,势必投入大量抑藻细菌才可改变菌群组成以达到抑藻目的;若在赤潮后期投放细菌,则不需太多的量,也可比较有效地促进赤潮的消亡。最恰当的方法是定期监测海洋菌群的组成,如果发现其多样性下降(这往往是赤潮的先兆),立即投放多种抑藻细菌,以维持海洋生态环境的平衡关系,防患于未然。

第四是海水营养程度。诸多研究表明,细菌的杀藻作用与水环境营养物浓度有密切关系。有些细菌的杀藻作用是通过与藻类竞争有限的营养物而使藻细胞饿死。这样的水体中,营养物浓度不会过高。而有些细菌的杀藻作用只有在营养丰富的基质中才会发生,如粘细菌对蓝藻的抑制和杀灭作用。若大洋发生了蓝藻引发的赤潮(这是较为常见的),就不能不考虑那里的营养程度是否足以粘细菌杀藻提供可能,如果营养很贫乏,就不能采用粘细菌来防治这样的赤潮。

2.3 细菌防治的可能途径

首先必须分离出对赤潮藻类有特殊抑制效果的菌株。这些菌株可能存在于海底沉积物、海洋污水或赤潮发生时的海水中。在实验室检测其抑藻效果,测量其最低抑藻浓度等有关指标,对每种细菌建立一个档案,保存起来以备使用。

其次是细菌或细菌抑藻因子的大量生产。可采用发酵罐大量繁殖抑藻细菌;也可采用基因工程手段,将细菌中产生抑藻因子的基因引入工程菌如大肠杆菌进行大规模生产。最后是细菌的投放。大量生产的抑藻菌或抑藻物质制成水剂或片剂,随时可根据需要投放于海水中。若赤潮已发生,则投入抑藻物质;若赤潮尚未发生,则投入抑藻菌以维持海洋菌群的平衡。

3 结语

藻类和细菌既可相互促进生长,又可互相抑制甚

至杀死对方。这种错综复杂的关系因藻和菌种类的不同而异,同时又受环境因素的影响。具体研究这种关系及其发生的环境,对于了解水环境中的营养结构及物质能量流动的规律具有重要意义。细菌在蓝藻细胞内共生的现象使人们思考叶绿体的起源并提出了“内共生假说”。藻菌关系的研究有着很重要的价值,其中有些是已经看到的,更多却是难以估量的。

对于藻菌关系的研究,建议从以下几个方面入手:

(1)使用经典手段和分子生物学手段研究赤潮期间细菌的时间和空间分布特点,从而描述细菌与这些藻类在系统和功能上的关系。

(2)分离并鉴定细菌与藻类的生物活性代谢物,分别研究它们对细菌和藻类生长的效应或毒性,阐明它们在自然群落里合成的方式和作用机制。

(3)评价产毒细菌对毒素进入水生食物网和在食物网中转移的意义,以及在渔业资源感染毒素过程中,这些微生物所起的作用。

(4)探明产毒基因在细菌和其他细胞中的分布(例如质粒,病毒等),进一步揭示微生物的种属特性与合成某种特殊的“藻毒”的内在原因,以及产毒基因转移的可能机制。

利用细菌防治赤潮将成为赤潮生物防治的重要手段。这需要人们加快基础研究的进程和理论向实践转化的步伐,尽快筛选有效的抑藻细菌并使它们的大规模培养和工厂化生产成为可能。

参考文献

- 1 郑天凌等.海洋科学,1994, 3 :35~38
- 2 T. Ietswaart et. al. . *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, 60: 1 554~1 560
- 3 Jean-Luc Mouget et. al. . *FEMS Microbiology Ecology*, 1995, 18: 35~44
- 4 Kirhner M. et al. . *Sarsia*, 1996, 81: 45~46
- 5 M. Middelboe et. al. . *Microbial Ecology*, 1995, 29:231~248

