

# 棕鞭藻对蛋白核小球藻的摄食及其营养策略\*

李凤超\*\* 王福强 张富华 曹卫荣 康现江

(河北大学生命科学学院,河北保定 071002)

**摘要** 在研究稻草秸秆对蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)的化感作用时,偶然发现一株对蛋白核小球藻具有强烈的取食作用的鞭毛虫,能有效抑制小球藻的大量繁殖。经形态学观察,该种鞭毛虫具有2片淡黄色色素体,片状、周生;虫体呈球形、椭圆形或卵形,能变形,具2根不等长的鞭毛,从细胞顶部伸出;长鞭毛约为虫体的1.5倍,短鞭毛约为虫体的0.5倍,对蛋白核小球藻的吞噬能力极强,每个虫体可以吞噬3~4个小球藻,虫体大小因吞噬物的多少变化较大。初步确定这种鞭毛虫为棕鞭藻(*Ochromonas* sp.)。在SE、稻草以及麦粒3种培养基中的种群生长表明,这种棕鞭藻在麦粒培养基最易培养,生长速度最快。结果表明,这种棕鞭藻为混合营养类型,但以吞噬营养为主。

**关键词** 鞭毛虫;棕鞭藻;蛋白核小球藻;混合营养

中图分类号 Q958.8 文献标识码 A 文章编号 1000-4890(2010)3-0539-04

**Grazing and trophic strategy of *Ochromonas* sp. on *Chlorella pyrenoidosa*.** LI Feng-chao, WANG Fu-qiang, ZHANG Fu-hua, CAO Wei-rong, KANG Xian-jiang (College of Life Science, Hebei University, Baoding 071002, Hebei, China). *Chinese Journal of Ecology*, 2010, 29(3): 539-542.

**Abstract:** When we studied the allelopathic effects of rice straw on the growth of microalga *Chlorella pyrenoidosa*, a flagellate strain which could strongly graze on *C. pyrenoidosa* and effectively inhibit the population growth of *C. pyrenoidosa* was incidentally isolated. The flagellate had two yellow chloroplasts, cell spherical or oval, sometimes metamorphic, and usually free-swimming but occasionally attaching to surfaces with posterior end. The flagellate had two unequal flagella. The longer flagellum was about 1.5 times as the length of the cell, and the shorter one was about half times as the length of the cell. The flagellate showed strong phagocytic capacity on *C. pyrenoidosa*. Each flagellate could simultaneously swallow 3-4 cells of *C. pyrenoidosa*, and its body size changed greatly with the quantity of food swallowed. From the morphological features, this flagellate was identified as a species of *Ochromonas*. The growth curves of the *Ochromonas* sp. population on three different culture media (SE, rice straw, and wheat grain) showed that wheat grain medium was optimum for the population growth. Based on our results, the trophic strategy of *Ochromonas* sp. was of mixotrophy, but phagotrophy was the main mode.

**Key words:** flagellate; *Ochromonas* sp.; *Chlorella pyrenoidosa*; mixotrophy.

鞭毛虫(flagellates)在自然环境中分布广泛、数量丰富、种类繁多,可以扮演从初级生产者(primary producer)到肉食者(carnivore)等全部营养角色(Sanders, 1991; 李凤超等, 2005)。一些自由生活的混合营养(mixotrophy)鞭毛虫在进行光合自养(autotrophy)的同时,还可以摄食细菌、藻类甚至纤毛虫,

进行吞噬营养(phagotrophy)。兼有光合自养和吞噬营养的混合营养鞭毛虫类群主要有隐藻类(cryptomonad)和金藻类(chryomonad)(Sanders & Porter, 1988),另外腰鞭毛虫(dinoflagellates)中混合营养的种类也较多(Gaines & Elbrächter, 1987)。混合营养鞭毛虫不仅可以进行光合作用,还可以通过吞噬作用获得营养,并影响到被食者种群动态(Callieri *et al.*, 2002),对于微食物环的物质循环和能量流动具有重要作用。

\* 河北大学博士基金项目(2007096)和河北省自然科学基金资助项目(C2009000172)。

\*\* 通讯作者 E-mail: lifengchao2000@126.com

收稿日期:2009-08-23 接受日期:2009-10-06

本实验室在研究小球藻抑藻实验的过程中,发现一株对小球藻具有强烈摄食作用的鞭毛虫,根据其形态特征,确定此鞭毛虫隶属于金藻纲(Chrysophyceae)、棕鞭藻科(Ochromonadaceae)、棕鞭藻属(*Ochromonas*)。经分离纯化,获得了此鞭毛虫的单克隆种群。本文研究了此棕鞭藻种群对蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)的摄食作用,同时研究了3种培养基对其种群生长的影响,以期为相关研究提供基础资料,同时也为藻类水花的控制提供新的思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

棕鞭藻(*Ochromonas* sp.)从蛋白核小球藻培养液中分离纯化,蛋白核小球藻由武汉水生生物研究所淡水藻种库提供。

### 1.2 棕鞭藻分离纯化和培养方法

在含有鞭毛虫的小球藻藻种中吸取少量培养基,通过稀释溶液的方法,在倒置显微镜下获得仅含有单个鞭毛虫的液滴,然后将此鞭毛虫接入含有少量小球藻培养液中培养,逐级扩大培养,最后获得大量的纯种鞭毛虫。培养条件:光暗比为14:10,温度为28℃,光照强度2000 lx。

### 1.3 鞭毛虫对蛋白核小球藻的摄食

取浓度为 $0.46 \times 10^6$ 个·ml<sup>-1</sup>的藻种30 ml,加入浓度为 $0.11 \times 10^6$ 个·ml<sup>-1</sup>的鞭毛虫培养液0.4 ml,空白对照组只加入浓度相同的小球藻藻种,并设立3个平行组,培养方法同上。每24 h用血球计数板显微镜下分别对小球藻和鞭毛虫计数,连续记录7 d。

### 1.4 不同培养基对棕鞭藻种群生长的影响

将分离纯化的棕鞭藻分别接入SE培养基、稻草浸出液培养基(煮沸15 min的0.01%稻草)和麦粒培养基(每10 ml水加1个麦粒)中培养,每组3个平行,每24 h对计数1次鞭毛虫数量,连续记录8 d,记录鞭毛虫的生长情况,并统计种群增长率。种群增长率根据公式 $r_t = \ln N_t - \ln N_0$ 计算,其中 $N_t$ 为经过时间 $t$ 后的种群密度, $N_0$ 为种群初始密度。具体方法见张绍丽等(2001)。

## 2 结果与分析

### 2.1 棕鞭藻的形态特征及对小球藻的吞噬

从小球藻藻种液中分离的鞭毛虫为淡水单细胞



图1 棕鞭藻(*Ochromonas* sp.)图片(×400)

Fig.1 Picture of *Ochromonas* sp. (×400)

鞭毛藻类,体不透明,具有2个色素体,片状、周生,色素体淡黄色;虫体呈球形、椭圆形或卵形,轻微变形,具有2根不等长的鞭毛,从细胞顶部伸出;长鞭毛约为虫体的1.5倍,短鞭毛约为虫体的0.5倍;个体大小因吞噬物的多少和不同变化较大,一般虫体细胞直径为15~25 μm,平均19 μm;长鞭毛25~37 μm,平均29 μm左右;短鞭毛7~12 μm,平均9 μm左右。在靠近虫体鞭毛基部,有一个伸缩泡(图1)。根据对此鞭毛虫的形态学观察,参考相关分类文献(沈韞芬等,1990;胡鸿钧和魏印心,2006),将其归为金藻门(Chrysophyta)金藻纲(Chrysophyceae)色金藻目(Chromulinales)棕鞭藻科(Ochromonadaceae)棕鞭藻属(*Ochromonas*)。

蛋白核小球藻藻种受到此棕鞭藻的污染后,小球藻的种群数量急剧下降,显微镜下观察发现其能迅速吞噬小球藻细胞。吞噬过程是通过胞吞作用完成的。由于没有特殊的进食口器,所以吞噬作用可发生在虫体的多个部位,一个鞭毛虫最多可吞入3~4个小球藻细胞,吞噬小球藻后个体大小明显增大(图2)。

### 2.2 棕鞭藻吞噬小球藻的种群动态

在利用SE培养基培养的蛋白核小球藻中加入此鞭毛虫,连续培养7 d,对照组不加棕鞭藻,每24 h计数1次,统计小球藻和棕鞭藻的种群动态变化,并绘制种群动态变化曲线(图3)。

从小球藻与棕鞭藻的种群动态变化曲线中可以看出,在未加棕鞭藻的小球藻培养基中,小球藻种群增长迅速,在经过短暂的适应期后迅速进入对数生长期,种群数量最高可达 $7.702 \times 10^6$ 个·ml<sup>-1</sup>。加



图2 吞噬蛋白核小球藻的棕鞭藻(×400)

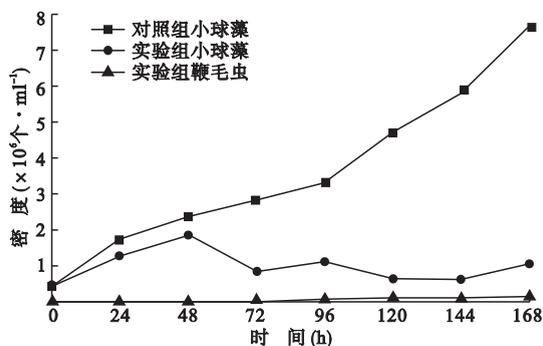
Fig.2 *Ochromonas* sp. grazing on *Chlorella pyrenoidosa* (×400)

图3 棕鞭藻种群对小球藻的种群的动态变化

Fig.3 Population dynamic curve of *Ochromonas* sp. and *Chlorella pyrenoidosa*

入棕鞭藻的小球藻培养液中,在前2 d 小球藻种群趋势与对照组一致,但数量增加缓慢,种群数量最高为  $1.885 \times 10^6$  个·ml<sup>-1</sup>。随着培养时间的增加,小球藻数量下降,棕鞭藻对小球藻种群表现出明显的抑制作用。

### 2.3 棕鞭藻在3种培养基中的生长特征

为了进一步了解棕鞭藻(*Ochromonas* sp.)的营养类型,选择了SE培养基、稻草浸出液培养基和麦粒培养基对其进行连续培养8 d,每24 h计数1次,统计其在不同培养基中的生长状况,并据此绘制棕鞭藻在不同培养基中的生长曲线(图4)。

从棕鞭藻在不同培养基中的生长曲线图中可以看出,棕鞭藻在含有丰富有机物的麦粒培养基中,经过短暂的适应期,迅速进入对数生长期,生长速度最快,种群最大密度可达  $52.533 \times 10^6$  个·ml<sup>-1</sup>。随着种群的急剧扩大,几天后受营养和空间的限制,在第6天种群出现衰退,数量减小,棕鞭藻在稻草培养

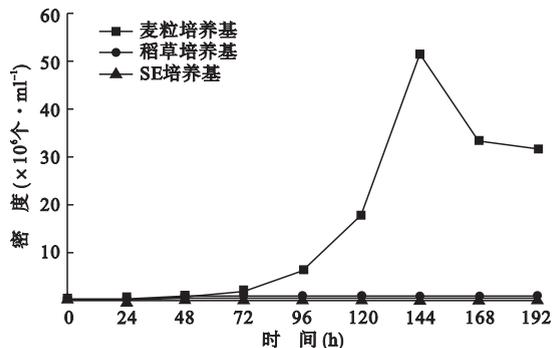


图4 棕鞭藻在不同培养基中的生长曲线

Fig.4 Growth curve of *Ochromonas* sp. in three different media

基中能生长,但是生长速度较慢,而在只含无机盐类的SE培养基中,棕鞭藻能存活,但种群数量增长缓慢。棕鞭藻在SE、稻草和麦粒3种培养基中的种群增长率分别为0.0115、0.0183和0.0415 h<sup>-1</sup>,在SE培养基中种群增长率最低,在麦粒培养基中最高。

在麦粒培养基中,观察到含有丰富的有机物质颗粒,并且滋生有大量的细菌,棕鞭藻可以通过胞吞作用将这些食物颗粒和细菌吞入体内,获得能量;在稻草培养基中,含有的有机物质颗粒相对较少,细菌数量远少于麦粒培养基中的数量,这在一定程度上限制了棕鞭藻的食物来源,造成其生长速度比较缓慢;而在高压灭菌的SE培养基中,不含有机物质,基本上没有细菌滋生,限制了棕鞭藻的食物来源,造成其在SE培养基中基本不生长。当然,藻类培养基种类多样,SE培养基可能并不是此种棕鞭藻的最佳培养基。根据棕鞭藻在3种培养基中的生长情况,初步判断,尽管其自身带有色素体,能进行光合作用,自养生活,但光合自养并不是它的主要的营养方式,主要靠吞噬营养从外界摄取细菌以及固体有机颗粒为能量来源。上述结果也表明,棕鞭藻在SE培养基中并不表现出明显生长,进一步证明棕鞭藻在小球藻培养液中主要通过吞噬小球藻而生长。

### 3 讨论

混合营养鞭毛虫在海洋和淡水生态系统中均已发现,其生态作用作为一个新的研究领域引起了关注(Olrik, 1998; Weithoff & Wacker, 2007)。在混合营养的鞭毛虫中,金藻纲的种类较多,主要有棕鞭藻属(*Ochromonas*)、锥囊藻属(*Dinobryon*)、辐尾藻(*Uroglena*)、*Chrysothephanosphaera*,以及一些不等鞭毛藻类(如*Pedinella*、*Cyrtophora*)等(Sanders,

1991)。不同种类的混合营养鞭毛虫营养策略也有所不同,目前认为隐藻类(如湖沼红胞藻 *Rhodomonas lacustris*)以光合自养为主,吞噬营养为辅(Jansson *et al.*, 1996)。经过对本研究中分离出的棕鞭藻(*Ochromonas sp.*)营养类型的初步研究,发现虽然它具有色素体,能进行光合作用,但并不以光合自养为主,而主要依靠吞噬水中的细菌、小型藻类和有机物质获得能量,在有机物质和细菌丰富的培养基中能迅速的繁殖,而在无机盐培养基(SE)中虽能生存,但种群增长缓慢。这表明这种棕鞭藻属于混合营养类型,但更偏重于异养。Jansson等(1996)也认为,混合营养金藻纲种类的营养策略以吞噬营养为主,光合自养为辅。

鞭毛虫的混合营养策略在生态学上有重要意义。例如,在冰雪刚刚融化的深水湖泊,细菌是唯一能够利用DOC的优势种群。此时湖泊的C:P值较高,P是限制因子(Hochstädter 2000)。在低P浓度环境下,由于细菌对磷酸盐有较高的亲和力,种群数量迅速增加,产量达到一个高峰。由于在养分竞争中的劣势,为了克服养分的限制,浮游植物(主要是混合营养的种类),不得不通过吞噬作用(phagotrophy)从细菌中获得养分。混合营养种类在营养受限的条件下,能够从细菌中获得氮、磷作为替代的营养物(Nygaard & Tobiesen, 1993; Urabe *et al.*, 2000),从而保证食物网的物质和能量流动。

棕鞭藻对于细菌的吞噬已有较多报道,对于铜绿微囊藻的牧食作用也有报道(王进等 2005; 扬州等, 2008)。本文首次报道了棕鞭藻对小球藻的摄食作用。棕鞭藻对小球藻的强烈摄食作用,可使人工培养的小球藻种群数量迅速降低,导致培养失败。因此棕鞭藻对于人工培养小球藻的影响应引起注意。

通过对蛋白核小球藻培养液中分离出的食藻鞭毛虫的形态学观察,初步确定其隶属于金藻纲(Chrysophyceae)棕鞭藻属(*Ochromonas*)。这种棕鞭藻对小球藻具有强烈摄食作用,能够抑制小球藻的种群增长。尽管这种棕鞭藻具有色素体,但根据在不同培养基中的生长情况,初步认为其营养策略以吞噬营养为主,光合自养为辅。混合营养的棕鞭藻对小型藻类的强烈摄食也为水华的控制研究及防治提供了一个新的思路。

致谢 感谢中国科学院水生生物研究所冯伟松先生在物种鉴定方面给予的指导和帮助。

## 参考文献

- 胡鸿钧,魏印心. 2006. 中国淡水藻类——系统分类及生态. 北京:科学出版社.
- 李凤超,沈韞芬,刘存歧,等. 2005. 应用原生动动物群落评价枯水期白洋淀的水质现状. 生态学杂志, **24**(7):785-789.
- 沈韞芬,章宗涉,龚循矩,等. 1990. 微生物检测新技术. 北京:中国建筑工业出版社.
- 王进,李建宏,华秀红,等. 2005. 吞噬微囊藻的鞭毛虫的培养. 湖泊科学, **17**(2):183-187.
- 扬州,孔繁翔,史小丽,等. 2008. 棕鞭毛虫牧食作用对铜绿微囊藻形态和生理特性的影响. 湖泊科学, **20**(4):403-408.
- 张绍丽,马洪钢,宋微波. 2001. 海洋纤毛虫巨大拟阿脑虫的实验生态学研究:初始密度及食物对其种群生长的影响. 海洋与湖沼, **32**(6):641-646.
- Callieri C, Bertoni R, Corno G. 2002. Dynamics of bacteria and mixotrophic flagellates in an Alpine lake in relation to *Daphnia* population development. *Journal of Limnology*, **61**:177-182.
- Gaines G, Elbrächter M. 1987. Heterotrophic nutrition// *The Biology of Dinoflagellates*. Oxford:Blackwell:224-268.
- Hochstädter S. 2000. Seasonal changes of C:P ratios of seston, bacteria, phytoplankton and zooplankton in a deep, mesotrophic lake. *Freshwater Biology*, **44**:453-462.
- Jansson MP, Jonsson BA, Bergström AK. 1996. Nutrient limitation of bacterioplankton, autotrophic and mixotrophic phytoplankton, and heterotrophic nanoflagellates in Lake Östräsket. *Limnology and Oceanography*, **41**:1552-1559.
- Nygaard K, Tobiesen A. 1993. Bacterivory in algae: A survival strategy during nutrient limitation. *Limnology and Oceanography*, **38**:273-279.
- Olrik K. 1998. Ecology of mixotrophic flagellates with special reference to Chrysophyceae in Danish lakes. *Hydrobiologia*, **369/370**:329-338.
- Sanders RW, Porter KG. 1988. Phagotrophic phytoflagellates// *Advances in Microbial Ecology*. New York:Plenum:167-192.
- Sanders RW. 1991. Trophic strategies among heterotrophic flagellates// Patterson DJ, Larsen J, eds. *The Biology of Free-Living Heterotrophic Flagellates*. Oxford:Clarendon:22-38.
- Urabe J, Gurung TB, Yoshida T, *et al.* 2000. Diel changes in phagotrophy by *Cryptomonas* in Lake Biwa. *Limnology and Oceanography*, **45**:1558-1563.
- Weithoff G, Wacker A. 2007. The mode of nutrition of mixotrophic flagellates determines the food quality for their consumers. *Functional Ecology*, **21**:1092-1098.

作者简介 李凤超,男,1970年生,博士,副教授。主要从事水域生态学研究。E-mail: lifengchao2000@126.com  
责任编辑 李凤芹