DOI号: 10.3724/SP.J.1000.2008.50720

铜绿微囊藻和四尾栅藻在不同温度下的生长特性及竞争参数计算

郑忠明[1,2]　白培峰[1]　陆开宏[1,2]　金春华[1]　张　亮[1]
(1.宁波大学应用海洋生物技术教育部重点实验室, 宁波　315211; 2.中国海洋大学生命学部养殖生态实验室, 青岛　266003)

摘要: 在实验室条件下, 对铜绿微囊 (Microcystis aeruginosa)和四尾栅藻 (Scendesmus quadricauda)分别在温度 22℃、26℃和 30℃下进行了纯培养和混合培养, 实验结果显示温度对两种藻类的生长和竞争都有显著影响。微囊藻在 22℃、26℃和 30℃纯培养下的最大生物量及平均特定增长率(L)分别为 444、1180和 998(@10⁴ cells/mL)及 0.33、0.38和 0.37/d, 说明微囊藻在 26℃和 30℃下生长较好; 混合培养下的最大生物量及平均特定增长率分别为 270、778和 647(@10⁴ cells/mL)及 0.34、0.43和 0.46/d, 显示微囊藻在混合培养下受到了栅藻一定程度的竞争抑制。栅藻在 22℃、26℃和 30℃纯培养下的最大生物量及平均特定增长率分别为 830、984和 464(@10⁴ cells/mL)及 0.36、0.34和 0.32/d, 混合培养下的最大生物及平均特定增长率分别为 538、554和 387(@10⁴ cells/mL)及 0.43、0.40和 0.39/d, 说明栅藻在温度 22℃、26℃下生长较好, 混合培养下栅藻的生长受微囊藻影响较大。各温度下两种藻类的生长都可以用 Logistic方程拟合。微囊藻对栅藻的抑制参数 A分别为 1.68(22℃)、0.65(26℃)和 0.76(30℃), 而栅藻对微囊藻的抑制参数 B依次为 0.43(22℃)、0.51(26℃)和 0.25(30℃), 三个温度下 A均大于 B, 产生这一结果的原因可能是由于微囊藻与栅藻在竞争过程中不仅表现为资源竞争, 同时还存在着明显的他感作用, 且可推测微囊藻对栅藻的他感作用大于栅藻对微囊藻的, 且在 22℃时为最大。

关键词: 铜绿微囊藻; 四尾栅藻; 温度; 种间竞争; Lotka-Volterra模型; 竞争参数
中图分类号: Q143⁺.11　　文献标识码: A　　文章编号: 1000-3207(2008)05-0720-08

随着社会经济的迅速发展, 大量营养盐进入区域水体, 导致水体的富营养化; 淡水水体富营养化最令人憎恶的表征是蓝藻水华, 俗称/湖靛0。20世纪 80年代后期起, 蓝藻水华的发生日益频繁。目前, 我国有 80%以上的湖泊面积面临蓝藻水华的威胁, 2007年上半年太湖蓝藻的大暴发更是震惊全国。富营养水体中, 蓝藻门、绿藻门、甲藻门、裸藻门和隐藻门的一些种类在适宜的环境条件下均能大量繁殖形成水华, 而铜绿微囊藻是其中最典型及常见的水华藻类之一, 因此对其生长、抑制机理的探索一直是相关研究的热点[1,6]。

生物种间竞争是生物群落中普遍存在的物种间相互产生负效应的一种作用关系, 对其机理的研究有助于进一步了解竞争生物的生长及抑制的规律。国内外对微囊藻与其他生物的种间竞争研究已有较多的报道, 如: 不同的物理因子对微囊藻和其他藻类竞争的影响[1,3,6]; 从竞争角度研究微囊藻的产毒机理[7]; 其他藻类对微囊藻抑制机理的研究[8,12]等。另外, 由于栅藻在自然水体中的普遍存在及其在实验室内易培养等优点, 因此对它与微囊藻竞争模式的相关研究一直是研究工作者探讨微囊藻与其他藻类的竞争机理的典型实验方法[3,5,8]。

温度作为影响藻类生长的最重要因素之一, 其对蓝藻生长特性的影响也有很多报道, 但不同文献的研究结果差别较大[13,19]。相比之下, 温度对微囊藻与其他藻类竞争的影响报道较少[16,17]。因此本文就铜绿微囊藻 (Microcystis aeruginosa)和四尾栅藻 (Scendesmus quadricauda)在不同温度下的生长特点进行了研究, 从生物竞争的角度探索它们之间的相互作用和抑制关系, 旨在为微囊藻水华的形成机制方面可以提供基础数据。

1　材料与方法

1.1　材料　实验所用的铜绿微囊藻 (单细胞, 产

收稿日期: 2007-08-22; 修订日期: 2008-02-06
基金项目: 国家自然科学基金项目 (30771658); 浙江省教育厅项目 (20061641); 浙江省自然科学基金项目 (Z505319, Y307542); 宁波市自然科学基金重点项目 (2006A610081)资助
作者简介: 郑忠明 (1965-), 男, 浙江舟山人; 副教授, 硕士; 主要从事水域生态、水产养殖的教学与研究
通讯作者: 郑忠明, E-mail: zhengzhongming@nbu.edu.cn

毒)和四尾栅藻是由宁波大学生命学院生物实验室藻种库提供。培养基采用 BG211培养基[20]。试验所需所有玻璃仪器经清水冲洗后, 在稀盐酸中浸泡 30m in, 以无菌水冲洗, 烘干备用。

112　方法

11211　实验方案　本实验中的藻类培养方式设 3种: 微囊藻的单独培养、栅藻的单独培养、微囊藻和栅藻的共同培养。每个培养方式均置于所设置 3个温度中, 分别是 22e 、26e 、30e , 每个试验重复 3次。实验过程的所有操作都是在无菌条件下进行的。

11212　接种培养　在经过高压灭菌的 250mL锥形瓶中加入 100mL的培养液, 然后进行接种, 方法为将培养的藻类在离心机(TDL8022B, 上海安亭科学仪器厂)上以 5000r/m in离心 5m in, 去掉上清液; 用培养基稀释至接种所需的藻细胞浓度; 然后置于光照恒温度培养箱内在不同温度下进行一次性培养(中间不更换培养液)。要求实验水样中微囊藻的初始密度为 30 @10^4 cells/mL; 栅藻的初始密度为 25 @10^4 cells/mL。日光灯冷光源的光暗周期为 12hBl2h, 温度波动范围控制在 ? 012e 以内, 培养期间白天人工摇动培养瓶 3) 4次。

11213　细胞计数　自接种的当日起, 每天均在同一时间取样, 每种样品用灭菌取液枪取 011mL藻液置于 011mL血球计数板中于显微镜下进行计数, 多次计数取平均值。整个取样过程都是在无菌操作台上进行的。

113　数据整理

11311　特定增长率的计算及生长曲线的拟合　特定增长率由藻类现存量的对数对培养时间的经验回归方程计算得到[16]:

$$\ln B = L\# t + b$$

式中: L为特定增长速率(/d), B为藻类生物量(cells/mL); t为培养时间(d); b为起始藻类生物量的对数。

纯培养下藻类的生长以逻辑斯谛方程 $N = \frac{K}{1+e^{a-rt}}$拟合, 其中 N 为藻类生物量, K 为最大生物量, r为内禀增长率。

11312　竞争抑制参数的计算　利用 Lotka2Volterra的竞争模型的差分形式[21]:

$$(N_s - N_{s-1}) / (t_n - t_{n-1}) = r_s N_{s-1} (K_s - N_{s-1} - AN_{m-1}) / K_s \quad (1)$$

$$(N_m - N_{m-1}) / (t_n - t_{n-1}) = r_m N_{m-1} (K_m - N_{m-1} - BN_{s-1}) / K_m \quad (2)$$

式中, N_s和 N_m分别为共培养中的栅藻和微囊藻在时间 t_n时的数量(@10^4 cells/mL); N_{s-1}和 N_{m-1}分别为共培养中栅藻和微囊藻在时间 t_{n-1}时的数量(@10^4 cells/mL), r_s和 r_m分别为栅藻和微囊藻的增长率(由单种培养经回归计算获得); K_s和 K_m分别为栅藻和微囊藻的最大环境容量(由单种培养获得); A和 B分别为共培养中微囊藻对栅藻和栅藻对微囊藻竞争抑制参数。

应用上述公式计算共培养藻类增长曲线在拐点以后的每一单位时间的所有的竞争抑制参数, 取其平均值作为该种的竞争抑制参数的估计值[22]。

抑制起始点为藻类增长曲线的拐点, 即逻辑斯谛方程二阶导数等于零时的时间 t_p值, 这时 N = K /2, $t_p = (A - \ln 2) / r$。因为是差分形式, 故 t_p对 $(A - \ln 2) / r$取整数[22]。

曲线拟合、统计分析等数据处理均在 SPSS13统计软件上进行, 藻类最大生物量比较时, 数据经对数变换后再进行单因素方差分析(ANOVA)和 Duncun多重比较(温度间)及 t- 检验(培养方式间); 绘图在中文 M icrosoft的 Excel中进行。

2　结　果

211　不同温度下微囊藻和栅藻生长特点

最大生物量及特定增长率　不同温度下纯培养和共培养中微囊藻和栅藻最大生物量和特定增长率(图 1和表 1)。

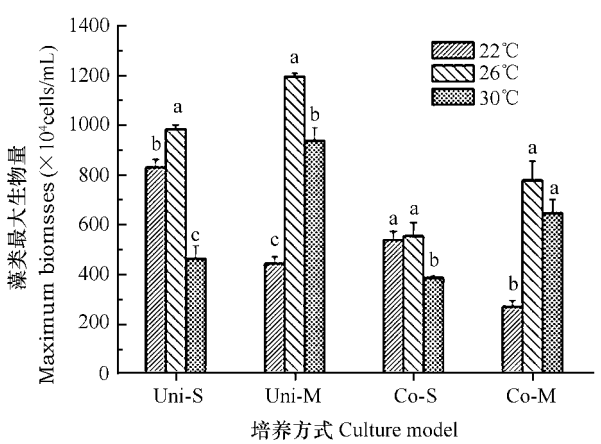


图 1　不同温度、培养方式下栅藻、微囊藻的最大生物量

Fig1　The maximum biomasses of M1aeraginosa in uni2culture (Uni2M) or co2culture (Co2M) and S1quadricauda in uni2culture (Uni2S) or co2culture (Co2S) at different temperatures

Uni2S: 纯培养栅藻; Uni2M: 纯培养微囊藻; Co2S: 混合培养栅藻; Co2M: 混合培养微囊藻; 在同一培养方式组内, 不同的小写字母表示差异显著 ($p < 0105$)

Letters indicate statistical differences between temperatures, values not sharing a common letter are significantly different ($p < 0105$)

在实验条件下, 随温度的升高微囊藻和栅藻的最大生物量的变化各不相同。经方差分析可知, 温度对两种藻类在纯培养和混合培养下的最大生物量均有显著影响 (ANOVA, $p < 0.05$)。在纯培养下, 栅藻、微囊藻在 26e 时的最大生物量都显著大于其他两组时的最大生物量 ($p < 0.05$), 栅藻在 22e 时的最大生物量要显著大于 30e 时的 ($p < 0.05$), 而微囊藻的最大生物量则是 30e 时显著大于 22e 时的 ($p < 0.05$); 在混合培养下, 22e 和 26e 下栅藻最大生物量没有显著差异 ($p > 0.05$), 但显著大于 30e 下的 ($p < 0.05$), 微囊藻的最大生物量在 22e 时显著小于 26e 和 30e ($p < 0.05$), 而在 26e 和 30e 下差异不显著 ($p > 0.05$)。各温度下混合培养时栅藻、微囊藻的最大生物量都显著小于纯培养时各自的最大生物量 (t- 检验, $p < 0.05$)。

表 1 不同温度下栅藻、微囊藻的特定增长率

Tab.1 Mean L of *Maeraginosa* and *Squadricauda* at different temperatures(L)

		特定增长率的 95% 置信区间 95% confidence interval of specific growth rate (L)	
		纯培养 Uni-culture	混合培养 Co-culture
微囊藻	22e	0.33 ? 0.04 (1) 7d)*	0.34 ? 0.03 (1) 7d)
Maeraginosa	26e	0.38 ? 0.03 (1) 8d)	0.43 ? 0.01 (1) 7d)
	30e	0.37 ? 0.08 (0) 8d)	0.46 ? 0.09 (0) 6d)
栅藻	22e	0.36 ? 0.11 (0) 9d)	0.43 ? 0.08 (0) 9d)
Squadricauda	26e	0.34 ? 0.05 (1) 10d)	0.40 ? 0.07 (1) 7d)
	30e	0.32 ? 0.02 (0) 6d)	0.39 ? 0.10 (0) 6d)

* 括号内为藻类指数生长期时间

* The number in parentheses is the duration of exponential growth of the algae

两种藻类生长的平均特定增长率在不同温度下的变化也不相同, 纯培养下栅藻的特定增长率随温度升高有下降趋势, 30e 时为最低; 微囊藻的特定增长率在纯培养下随温度的升高而增加, 最低为 22e 时; 在混合培养体系中, 栅藻的特定增长率在不同温度下差异不大, 微囊藻的特定增长率在 22e 时最低, 而在 26e 和 30e 下差别不大。

生长曲线 微囊藻和栅藻在不同温度下的生长曲线 (图 2), 栅藻和微囊藻纯培养在不同温度下的生长曲线基本符合 S型生长曲线。

从图 2a可以看到微囊藻和栅藻在 22e 下生长趋势, 在第 3天以前纯培养和共培养体系中两种藻的胞密度比较接近, 但在纯培养与共培养体系中都是栅藻胞密度高于微囊藻。

纯培养的微囊藻和栅藻在 26e 下均有较好的生长趋势 (图 2b)。微囊藻和栅藻在第 5天以前密度比较接近, 在图中点的分布比较集中; 第 5天以后才显示出生长趋势的分离, 在纯培养与共培养体系中微囊藻的细胞密度均要高于栅藻; 对比纯培养和共培养体系, 混合培养体系中微囊藻的生长从第 10天后受到抑制, 而混合培养的栅藻从第 6天开始即受到抑制, 说明此温度下混合培养体系中栅藻受到了更明显的抑制。

从图 2c可以看出, 在 30e 时微囊藻在纯培养和共培养体系均生长良好且有较长的指数生长期, 而栅藻在纯培养和混合培养体系中的生长都不理想。

不同温度下纯培养的各生长曲线均可用 Logistic模型拟合, 且具有较高的拟合度 (回归判定系数 R^2及回归显著性检验) (表 2), 同时根据 Logistic方程可计算得到拐点出现时间[22]。为计算拐点出现时间, 共同培养下的栅藻、微囊藻的生长也用 Logistic方程进行了拟合, 并由此得到各生长曲线拐点出现时间。

212 共同培养下竞争参数的确定

在 22e 共培养中, 两种藻类的竞争拐点出现在培养的第 4天; 在 26e 供培养中, 竞争拐点都出现在第 5天; 在 30e 下, 微囊藻对栅藻的抑制出现在第 2天, 栅藻对微囊藻的抑制出现在第 5天, 为求两种藻的相互竞争参数则将竞争拐点确定为第 4天。

以纯培养中拟合获得的 K 值、r 值和共培养中拐点后的栅藻和微囊藻的细胞数代入公式 (1)、(2), 计算各自的竞争抑制参数 (A, B)。计算结果见表 3、4和表 5, 其中 22e 时拐点之后微囊藻对栅藻的竞争抑制参数 (A) 的平均值和栅藻对微囊藻的竞争抑制参数 (B) 的平均值分别是 1.68和 0.18; 26e 下 A和 B的平均值分别是 0.65和 0.51; 30e 时 A和 B的平均值分别是 0.76和 0.25。

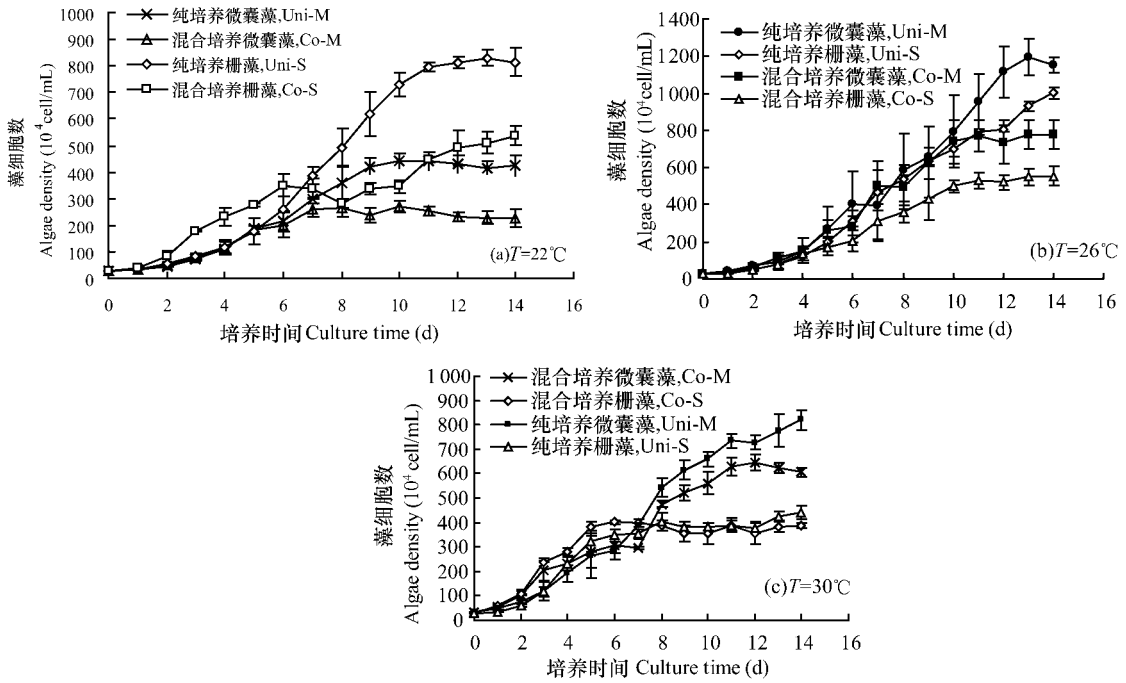


图 2　不同温度下微囊藻和栅藻纯培养及混合培养下的生长曲线

Fig. 2　The growth curve of M. aeruginosa and S. quadricauda in co-culture and in uni-culture systems at different temperatures. Uni-M, M. aeruginosa in uni-culture; Co-M, M. aeruginosa in co-culture; Uni-S, S. quadricauda in uni-culture; Co-S, S. quadricauda in co-culture.

表 2　不同温度下栅藻和微囊藻的逻辑斯谛模型 $N=\frac{K}{1+e^{a-rt}}$ 拟合参数及拐点出现的时间

Table 2　Fit parameters of M. aeruginosa and S. quadricauda, regression coefficients of Logistic model $N=\frac{K}{1+e^{a-rt}}$ and the inflection points

	温度 Temperature	K	a	r	R^2	拐点出现时间 Time of inflexion (d)
栅藻 S. quadricauda (uni-)	22℃	864.31	4.176±0.142*	0.570±0.063*	0.998**	6.13(6)
微囊藻 M. aeruginosa (uni-)	22℃	445.09	4.123±0.176*	0.631±0.122*	0.990**	4.61(5)
栅藻 S. quadricauda (uni-)	26℃	977.08	4.114±0.526*	0.480±0.745*	0.998**	6.18(6)
微囊藻 M. aeruginosa (uni-)	26℃	136.417	3.195±0.153*	0.400±0.079*	0.991**	7.14(7)
栅藻 S. quadricauda (uni-)	30℃	401.123	3.144±1.165*	0.688±0.134*	0.931**	2.99(3)
微囊藻 M. aeruginosa (uni-)	30℃	985.172	3.186±0.538*	0.450±0.795*	0.992**	6.04(6)
栅藻混合 S. quadricauda (co-)	22℃	564.197	2.115±0.073*	0.292±0.172*	0.912**	3.99(4)
微囊藻混合 M. aeruginosa (co-)	22℃	248.117	3.195±1.122*	0.812±0.182*	0.965**	3.61(4)
栅藻混合 S. quadricauda (co-)	26℃	576.14	3.851±0.143*	0.495±0.066*	0.996**	5.38(5)
微囊藻混合 M. aeruginosa (co-)	26℃	804.156	4.115±0.732*	0.547±0.090*	0.989**	5.32(5)
栅藻混合 S. quadricauda (co-)	30℃	380.125	4.124±1.312*	1.115±0.351*	0.978**	2.08(2)
微囊藻混合 M. aeruginosa (co-)	30℃	680.102	2.181±0.661*	0.390±0.112*	0.971**	4.43(4)

注: R^2 为回归判定系数; * 表示 95% 置信区间; ** 表示回归高度显著 (F 检验)

Note: R^2 is determinantal coefficient of regression; * indicates 95% confidence interval; ** means high difference of regression (F-test).

表 3 22e 下微囊藻和栅藻在拐点出现后的现存量 (@10⁴ cells/mL)及其竞争抑制参数

Tab13 The standing crop (@10⁴ cells/mL) and the competitive parameters ofM1aeraginosa andS1quadricauda after inflection point at 22e in co2culture

培养时间 Culture time (d)	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	平均 Average
共培养栅藻 S1quadricauda in co2culture	230	276	349	337	283	338	346	449	491	511	538	
共培养微囊藻 M1aeraginosa in co2culture	115	181	201	257	264	238	270	252	231	227	229	
A		2187	1105	2183	2199	1109	2106	0125	1108	1135	1120	1168
B		- 0130	0168	0113	015	0189	0133	0164	0156	0146	0142	0143

表 4 26e 下微囊藻和栅藻在拐点出现后的现存量 (@10⁴ cells/mL)及其竞争抑制参数

Tab14 The standing crop (@10⁴ cells/mL) and the competitive parameters ofM1aeraginosa andS1quadricauda after inflection point at 26e in co2culture

培养时间 Culture time (d)	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	平均 Average
共培养栅藻 S1quadricauda in co2culture	138	172	208	308	364	429	499	530	523	548	554	
共培养微囊藻 M1aeraginosa in co2culture	148	263	283	501	495	628	739	771	738	776	778	
A		2145	1143	- 0174	0157	0147	0130	0136	0162	0148	0153	0165
B		- 1183	3141	- 1182	1152	1152	0120	0131	0146	0128	0132	0151

表 5 30e 下微囊藻和栅藻在拐点出现后的现存量 (@10⁴ cells/mL) 及其竞争抑制参数

Tab15 The standing crop(@10⁴ cells/mL) and the competitive parameters ofM1aeraginosa andS1quadricauda after inflection point at 30e in co2culture

培养时间 Culture time (d)	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	平均 Average
共培养栅藻 S1quadricauda in co2culture	379	401	395	389	356	355	387	354	383	387	
共培养微囊藻 M1aeraginosa in co2culture	277	308	297	476	522	561	627	647	623	606	
A		0199	1106	1113	0186	0168	0147	0166	0142	0151	0176
B		0177	1125	- 1140	0129	0129	0	0118	0146	0145	0125

3 讨 论

从实验结果可知, 纯培养体系中微囊藻在 26e 和 30e 下的最大生物量与特定增长率均显著大于 22e 时的, 且以 26e 时为最大, 说明微囊藻的最适生长温度应在 26e 附近。这一结果与 Kruger & Eloff报道 (微囊藻生长的最适温度为 2818) 3015e)[14]及 Nichlisch & Kohl报道 (铜绿微囊藻的最适温度为 2715e)[15]基本一致。而栅藻的最大生物量及特定增长率在 22e 时均为最大, 分别为 830 @10⁴ cells/mL及 (0136 ? 0111) /d, 说明栅藻在较低温度下生长较好。从混合培养试验结果来看, 温度对铜绿微囊藻和四尾栅藻竞争的影响是明显的。在 22e 混合培养体系中, 栅藻、微囊藻的生长与纯培养下相比都受到了一定程度的抑制, 栅藻的最大生物量从纯培养的 830 @10⁴ cells/mL下降到混合培养的 538 @10⁴ cells/mL, 微囊藻从 444 @10⁴ cells/mL下降到 270 @10⁴ cells/mL。虽然此时栅藻为优势种, 但两种藻类的生长均因种间竞争而受影响。在 26e 及 30e 混合培养体系下, 微囊藻成为优势种, 最大生物量高于栅藻, 尤其在 30e 时, 微囊藻的最大生物量为 647 @10⁴ cells/mL, 而栅藻的最大生物量仅为 387 @10⁴ cells /mL。

藻类种间相互主要表现为对营养盐、光照等资源的竞争及分泌克生物质而抑制对方[20], 微藻间的相互抑制作用可由其抑制参数 (A和 B) 来体现, 陈德辉等在两种不同的培养基 (培养温度 25e)测得铜绿微囊藻对斜生栅藻的竞争抑制参数 A是 4172 ? 1136和 4136 ? 116, 而栅藻对微囊藻的竞争抑制参数的平均值 B分别是 0156 ? 0118和 01785 ?

0105, 得到微囊藻对栅藻的抑制能力是栅藻对微囊藻抑制能力的 7倍的结论[22]。在本实验中, 微囊藻对栅藻的抑制参数 A在 22e 、26e 和 30e 分别为 1168、0165和 0176, 而栅藻对微囊藻的抑制参数 B分别为 0143、0151和 0125, 在所有温度下微囊藻对栅藻的抑制参数都要大于对应的栅藻对微囊藻的抑制参数。因此本实验的结果与上述报道基本相符, 产生这一结果的原因一方面可能是由于铜绿微囊藻细胞较小, 相对于栅藻具有更大的比表面积, 能更多的吸收营养和接受光照, 获取生长所需条件, 因而在竞争中占优势[3]; 另一方面, 更主要的原因应该是微囊藻分泌毒素而对栅藻产生他感作用, 他感作用在水生植物种间竞争中普遍存在[23) 25], 微囊藻能分泌微囊藻毒素而使其在生物竞争中抑制对方生长。许秋瑾等报道微囊藻毒素对栅藻的生长存在显著的抑制作用, 而且微囊藻在与栅藻混合培养时比纯培养时能产生更多的毒素[7]。

另外, 由于微囊藻毒素为内毒素, 生理性分泌很少, 只有在藻类死亡分解后才大量释放出来, 所以理论上微囊藻毒素浓度的变化趋势相对于藻类生长情况应有滞后效应[26 27]。我们在实验中也发现一个现象: 即微囊藻细胞生长快速时, 单个细胞内微囊藻毒素积累慢, 微囊藻细胞生长缓慢时, 单个细胞内微囊藻毒素积累变快 (本课题组未发表的数据)。隋海霞等也得到了类似的结论[28]。这或许可以解释为什么在 22e 混合培养中, 虽然栅藻为优势种且微囊藻的生长缓慢, 但微囊藻对栅藻的抑制参数 A(1168)反而是三个温度组中最高的。因此, 这一结果的产生可能是由于在混合培养体系中, 当微囊藻在较低温度 (22e)下对资源竞争处于劣势而生长缓慢时, 主要是通过分泌毒素来抑制对方, 而在最适温度 26e 、30e 下微囊藻为优势种时, 微囊藻主要是通过对资源的竞争来抑制对方。

4 结　论

温度对铜绿微囊藻和四尾栅藻的生长和种间竞争均有显著影响, 微囊藻在 22e 、26e 和 30e 时纯培养下的最大生物量及平均特定增长率分别为 444、1180和 998(@10^4 cells/mL)及 0133、0138和 0137/d, 混合培养下的最大生物及平均特定增长率分别为 270、778和 647(@10^4 cells/mL)及 0134、0143和 0146/d; 栅藻在 22e 、26e 和 30e 时纯培养下的最大生物量及平均特定增长率分别为 830、984和 464(@10^4 cells/mL)及 0136、0134和 0132/d, 混合培养下的最大生物及平均特定增长率分别为: 538、554和 387(@10^4 cells/mL)及 0143、0140和 0139/d。各温度下两种藻类的生长都可以用 Logistic方程拟合。

在温度 22e 、26e 和 30e 下, 微囊藻对栅藻的抑制参数 A分别为 1168、0165和 0176, 而栅藻对微囊藻的抑制参数 B分别为 0143、0151和 0125, 三个温度下 A均大于 B, 产生这一结果的原因可能是由于微囊藻与栅藻在竞争过程中不仅表现为资源竞争, 同时还存在着明显的他感作用, 且可推测微囊藻对栅藻的他感作用大于栅藻对微囊藻的, 在 22e 时为最大。

参考文献:

[1] Zhang W, Lin Y Q, Guo D F, et al. Influence of different nitrogen and phosphorus concentrations on growth, photosynthesis and microcystin production of Microcystis aeruginosa [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2006, 30(3): 318) 322 [张玮, 林一群, 郭定芳, 等. 不同氮、磷浓度对铜绿微囊藻生长、光合及产毒的影响. 水生生物学报, 2006, 30(3): 318) 322]

[2] Xu T, Song L R. Studies on the utility of inorganic carbon in three strains of Microsystis aeruginosa [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2007, 31(2): 245) 250 [徐涛, 宋立荣. 三株铜绿微囊藻对外源无机碳利用的研究. 水生生物学报, 2007, 31(2): 245) 250]

[3] Wang K, Pang Y, Gao G. Comparison of competition between Microcystis aeruginosa and Scenedesmus obtiquus under different disturbance [J]. Environmental Science of Jiangsu, 2006, 4(19): 40) 42 [王珂, 逄勇, 高光. 不同扰动条件下微囊藻和栅藻竞争能力的比较. 江苏环境科技, 2006, 4(19): 40) 42]

[4] Li X L, Geng Y H, Li Y G, et al. Study on competition of Microcystis aeruginosa according to the characteristics of photosynthesis [J]. Botany Research of Wuhan, 2006, 24(3): 225) 230 [李小龙, 耿亚红, 李夜光, 等. 从光合作用特性看铜绿微囊藻 (Microcystis aeruginosa) 的竞争优势. 武汉植物学研究, 2006, 24(3): 225) 230]

[5] Hu X Z, Jin X C, Chu Z S, et al. Light competition between microcystis aeruginosa and scendesmus quadricauda from Taihu Lake and the dominance process simulation in Microcosm [J]. Journal of Agro2Environment Science, 2005, 24(3): 538) 543 [胡小贞, 金相灿, 储昭升, 等. 太湖铜绿微囊藻与四尾栅藻的光竞争及模拟优势过程初探. 农业环境科学学报, 2005, 24(3): 538) 543]

[6] Ma Z Y, Chu Z S, Hu X Z, et al. The effect of pH on competition of microsystis aeruginosa and scenedesmus quadricauda at different phosphorus mass concentration [J]. Research of Environmental Sciences, 2005, 5(18): 30) 33 [马祖友, 储昭升, 胡小贞, 等. 不同磷质量浓度体系中 pH变化对铜绿微囊藻和四尾栅藻竞争的影响. 环境科学研究, 2005, 5(18): 30) 33]

[7] Xu Q J, Gao G, Chen W M. Studies on microcystin from popula2

tion competition aspect [J]. Journal of Biology, 2004, 21(1): 17) 19 [许秋瑾, 高光, 陈伟民. 从种群竞争的角度初步研究微囊藻的产毒机理. 生物学杂志, 2004, 21(1): 17) 19]

[8] Chen D H, Zhang Z S, Liu Y D, et al. Dynamics of microsystis aeruginosa and scenedesmus obliquus competition for resources2I. growth dynamics and half2saturated constant of phosphorus2limited and irradiance of light2limited [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2000, 20(3): 349) 354 [陈德辉, 章宗涉, 刘永定, 等. 微囊藻栅藻资源竞争的动力学过程: Ⅰ. 光能和磷营养的半饱和参数及其生长率动态. 1环境科学学报, 2000, 20(3): 349) 354]

[9] Wang L S, Wu G R, Wang J A, et al. Inhibition of Hydrilla verticillata on the growth of Microcystis aeruginosa [J]. Lake Science, 2004, 16(4): 337) 342 [王立新, 吴国荣, 王建安, 等. 黑藻(Hydrilla verticillata)对铜绿微囊藻(Microcystis aeruginosa)抑制作用. 湖泊科学, 2004, 16(4): 337) 342]

[10] Qian Z P, Feng Y, Sun L, et al. Inhibitory effects of Ceratophyllum oryzetorum on the growth of Microcystis aeruginosa [J]. Bulletin of Botanical Research, 2006, 26(1): 79) 83 [钱志萍, 冯燕, 孙莉, 等. 金鱼藻对铜绿微囊藻生长的抑制作用研究. 植物研究, 2006, 26(1): 79) 83]

[11] Ma W M, Sun L, Qian Z P, et al. Effects of three aquatic plants on the growth of Microcystis aeruginosa [J]. Journal of Shanghai Normal University (Natural Sciences), 2003, 32(1): 101) 102 [马为民, 孙莉, 钱志萍, 等. 三种高等水生植物对铜绿微囊藻生长的影响. 上海师范大学学报, 2003, 32(1): 101) 102]

[12] Zhang T, Song L R. Allelopathic effect between Microcystis aerugi2nosa and three filamentous cyanobacteria [J]. Journal of Lake Science, 2006, 18(2): 150) 156 [张婷, 宋立荣. 铜绿微囊藻(Microcystis aeruginosa)与三种丝状蓝藻间的相互作用. 湖泊科学, 2006, 18(2): 150) 156]

[13] Watanabe M F, Oishi S. Effects of environmental factors on toxicity of a cyanobacterium (Microcystis aeruginosa) under culture conditions [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1985, 49: 1342) 1344

[14] Kruger G H J, Eloff J N. The effect of temperature on specific growth rate and activation energy of Microcystis and Synechococcus isolates relevant to the onset of natural blooms [J]. Journal of the Limnological Society of Southern Africa, 1978, 4: 9) 20

[15] Nicklisch A, Kohl J D. Growth kinetics of Microcystis aeruginosa (Kiltz) Kiltz as a basis for modelling its population dynamics [J]. Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie, 1983, 68: 317) 326

[16] Chu Z S, Jin X C, Iwami N, et al. The effect of temperature on growth characteristics and competitions of Microcystis aeruginosa and Oscillatoria mougeotii in a shallow, eutrophic lake simulator system [J]. Hydrobiologia, 2007, 581: 217) 223

[17] Robarts R D, Zohary T. Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration, and growth rates of bloom2forming cyanobacteria [J]. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, 1987, 21: 391) 399

[18] Foy R H, Gibson C E, Smith R V. The influence of daylength, light intensity and temperature on the growth rates of planktonic blue2green algae [J]. British Phycological Journal, 1976, 11: 151) 163

[19] Konopka A, Brock T D. Effect of temperature on blue2green algae (cyanobacteria) in Lake Mendota [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1978, 36: 572) 576

[20] Zheng S F, Yang S W, Jin X C. Dynamic studies on the effect of nutrients on the growth of Microcystis aeruginosa [J]. Environmental Science, 2005, 26(2): 152) 156 [郑朔方, 杨苏文, 金相灿. 铜绿微囊藻生长的营养动力学. 环境科学, 2005, 26(2): 152) 156]

[21] Voltera V. Fluctuation in the abundance of a species considered mathematically[J]. Nature, 1926, 118: 558) 560

[22] Chen D H, Liu Y D, Yuan J F, et al. Experiments of mixed culture and calculation of competitive parameters between Microcystis (Cyanobacteria) and Scenedesmus (Green algae) [J]. Acta Ecologica Sinica, 1999, 19(6): 908) 913 [陈德辉, 刘永定, 袁峻峰, 等. 微囊藻和栅藻共培养实验及其竞争参数的计算. 生态学报, 1999, 19(6): 908) 913]

[23] Schmidt I E, Hanser P J. Allelopathy in the prymnesiophyte Chrysodromulina olylepis: effect of cell concentration, growth phase and pH [J]. Marine Ecology Progress Series, 2001, 216: 67) 81

[24] Yang S Y, Yu Z W, Wu H M, et al. Isolation and identification of antidgal compounds from root system of water hyacinth [J]. Acta Phytophysiologica Sinica, 1992, 18(4): 399) 402 [杨善元, 俞子文, 吴厚铭, 等. 凤眼莲根系中抑藻物质分离与鉴定. 植物生理学报, 1992, 18(4): 399) 402]

[25] Yuan J F, Zhang Z S. Biochemical interference of aquatic Macrophyt Ceratophyllum demersum on algae [J]. Acta Ecologica Sinica, 1993, 13(1): 45) 50 [袁峻峰, 章宗涉. 金鱼藻(Ceratophyllum demersumm)对藻类的生化干预作用. 生态学报, 1993, 13(1): 45) 50]

[26] Zhu G C, Lv X W. Review on water treatment technology of removement of microsystin [J]. China Water and Wastewater, 2003, 19(8): 36) 39 [朱光灿, 吕锡武. 去除藻毒素的水处理技术研究进展. 中国给水排水, 2003, 19(8): 36) 39]

[27] Himberg K, Keijola A M, Hiisvirta L. The effect of water treatment processes on the removal of hepatotoxins from microcystis and oscillatoria cyanobacteria: a laboratory study [J]. Water Research, 1989, 23(8): 979) 984

[28] Sui H X, Yan W X, Xu H B. Toxicity of microcystin and its assemblage in aquatic organisms [J]. Journal of Hygiene Research, 2002, 31(3): 214) 216 [隋海霞, 严卫星, 徐海滨. 微囊藻毒素的毒性以及水生生物的富集作用. 卫生研究, 2002, 31(3): 214) 216]

GROWTH CHARACTERISTICS AND COMPETITIVE PARAMETERS OF MICROCYSTIS AERUGINOSA AND SCENDESMUS QUADRICAUDA AT DIFFERENT TEMPERATURES

ZHENG Zhong2Ming[1,2], BAI Pei2Feng[1], LU Kai2Hong[1,2], JIN Chun2Hua[1] and ZHANG Liang[1]
(1Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211;
2Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003)

Abstract Uni2culture and co2culture experiments of Microcystis aeruginosa and Scenedesmus quadricauda were carried our at temperatures of 22e, 26e and 30e under controlled laboratory conditions to explore the effect of temperature on growth and competition of these two algal species1 Growth and competition characteristics of M1aeruginosa and S1quadricauda were investigated by calculating their logistic equation and competition parameters with Lotka2Volterra mod2el1 The results showed that the effects of temperature on growth and competition of two algae were significant; the maximum biomass and average specific growth rates of M1aeruginosa at 22e, 26e and 30e in uni2cultures were 444, 1180, 998 (@10^4 cells/mL) and 0133, 0138, 0137, respectively; the maximum biomass of M1aeruginosa at 26e was higher than that at 30e significantly ($p < 0105$), and the maximum of biomass of M1aeruginosa at 30e was significantly higher than that at 22e ($p < 0105$), which indicating that M1aeruginosa grew better at higher temperatures than at lower temperatures within the temperature range tested1 The maximum biomass and average specific growth rates of M1aeruginosa at 22, 26 and 30e in co2culture were 270, 778, 647 (@10^4 cells/mL) and 0134, 0143, 0146, respectively1 Each maximum biomass of M1aeruginosa at 22e, 26e or 30e in co2culture was significantly lower than that at corresponding temperatures in uni2culture ($p < 0105$), suggesting that the growth of M1aeruginosa was inhibited by S1quadricauda in co2culture1 The maxi2mum biomass of S1quadricauda at 22e and 26e were 830 and 984 (@10^4 cells/mL), which were significantly higher than that at 30e (464@10^4 cells/mL) ($p < 0105$); the average specific growth rates of S1quadricauda at 22e, 26e and 30e in uni2cultures were 0136, 0134, 0132, respectively; in co2culuture conditions, we obtained the lowest maximum bio2mass (387@10^4 cells/mL) of S1quadricauda at 30e which was significantly lower than those at 22e and 26e ($p < 0105$); the average specific growth rates of S1quadricauda at 22e, 26e and 30e in co2cultures were 0143, 0140 and 0139, respectively1 Similarly, each maximum biomass of S1quadricauda at 22e, 26e or 30e in co2culture was signifi2cantly lower than that at corresponding temperatures in uni2culture ($p < 0105$), which suggesting that the growth of S1quadricauda was inhibited by M1aeruginosa in co2culture1 These results suggested that S1quadricauda grew better at lower temperatures and the growth of S1quadricauda in co2cultures was influenced greatly by M1aeruginosa1 The growth curves of two algae fitted well to the Logistic model1 The inhibition parameters (A) of M1aeruginosa against S1quadricauda were 1168 (22e), 0165 (26e) and 0176 (30e), respectively, whereas the inhibition parameters (B) were 0143, 0151 and 0125, respectively1 Each A was larger than corresponding B at three temperatures, implying two algal species not only competed for resources but also allelopathy occurred in the competition, and allelopathy of M1aeruginosa against S1quadricauda was greater than that of S1quadricauda against M1aeruginosa1

Key words Microcystis aeruginosa; Scendesmus quadricauda; Temperature; Interspecific competition; Lotka2Volterra model; Competition parameter

DOI号: 10.3724/SP.J.1000.2008.50728

UP-REGULATING EXPRESSIONS OF TOLL-LIKE RECEPTOR 3 AND MX GENES IN GILLS BY GRASS CARP REOVIRUS IN RARE MINNOW, GOBIOCYPRIS RARUS

SU Jian-Guo[1,2], ZHU Zuo-Yan[1] and WANG Ya-Ping[1]
(1. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072; 2. College of Animal Sciences and Technology, Northwest A&F University, Yangling 712100)

Abstract Exposure to the external aqueous environment enhances the susceptibility to infectious diseases in fish gills. To understand the mechanism of local innate immunity against infectious grass carp reovirus (GCRV) in the gills, we identified the partial cDNA sequence of Mx, an antiviral effector molecule, in rare minnow Gobiocypris rarus. Real-time quantitative RT-PCR (qRT-PCR) was employed to quantitate mRNA levels of a pattern recognition receptor, Toll-like receptor 3 (TLR3), and type I interferons indicator molecule Mx. The artificial infection experiments revealed that TLR3 and Mx mRNA expressions were simultaneously significant up-regulation at 12h post-injection ($p < 0.05$), the transcription level of TLR3 recovered at 48h post-injection ($p > 0.05$), and the Mx mRNA expression kept at high transcription level till moribund ($p < 0.05$). These results highlighted the importance of the gills as a tissue capable of mounting a local immune response, and the interferon pathway was activated to GCRV infection.

Key words: GCRV; Gills; Gobiocypris rarus; Mx; TLR3
CLC number: Q344+.1 Document code: A Article ID: 1000-3207(2008)05-0728-07

Grass carp hemorrhagic disease causes catastrophic losses in grass carp culture in China, and the double-stranded RNA (dsRNA) virus grass carp reovirus (GCRV) has been identified as the etiological agent. GCRV mainly infects fingerlings and yearlings of the grass carp Ctenopharyngodon idellus and of the black carp Mylopharyngodon piceus[1]. The small-sized rare minnow Gobiocypris rarus is also susceptible to experimental infection[2]. We investigated the immune defense mechanism of the host to GCRV using the rare minnow as a model.

Mammalian Toll-like receptors (TLRs) recognize components of invading microbes and trigger the first line of innate immune response that is mediated by transcriptional induction of a large number of genes. Toll-like receptor 3 (TLR3) is thought to be a signature molecule of cellular response to viral infection[3], because it responds to dsRNA, a common by-product of viral replication[4], which may originate from single stranded RNA (ssRNA) or dsRNA viruses[5,6]. Viral dsRNA induces dendritic cell maturation through TLR3[5]. The recognition of TLR3 induces the production of pro-inflammatory cytokines, type I interferons (interferon A and B) which are key molecules for anti-viral response[7-9], and that encode intracellular viral stress-inducible proteins[4].

One of the most important mechanisms of antiviral defence is the production of interferons (IFN). Type I IFN, produces an antiviral state in the surrounding cells, mediated by the production of IFN-induced pro-

Received date: 2007-11-20; Accepted date: 2008-06-12
Foundation item: China Postdoctoral Science Foundation (20070410298), State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology (2007FB09), and National Natural Science Foundation of China (30740009 and 30540084)
Brief introduction of author: Su Jian-Guo (1972-), male, born in Shaanxi; Ph.D., major in immunology of hydrobiology. E-mail: su.jianguo@gmail.com
Corresponding author: Zhu Zuo-Yan, E-mail: zyzhu@ihb.ac.cn