

305-13

(25)

第19卷第6期
1999年11月生态学报
ACTA ECOLOGICA SINICAVol. 19, No. 6
Nov. 1999

微囊藻和栅藻共培养实验及其竞争参数的计算

Q143.1 Q849.208

陈德辉^{1,2}, 刘永定¹, 袁峻峰², 章宗涉², 宋立荣¹, 陈 坚²

(1. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 2. 上海师范大学, 上海 200234)

摘要:以 Lotka-Volterra 的双种竞争模型为基础, 进行试验设计。共培养试验中, 两种藻类的增长行为是不同的。培养前期共培养中栅藻的数量大于纯培养中栅藻的数量, 而在后期则相反, 微囊藻则是在整个共培养过程中的数量都小于纯培养中的数量。通过纯培养取得参数 K 和 r , 变模型的微分形式为差分形式, 以生长曲线拐点(密度制约起始点)出现的时间作为计算竞争参数的起始时间。经模拟计算获得竞争参数, 表明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。并以此作为微囊藻可能爆发成为“水华”的理由之一。应用所得的参数, 拟合共培养中藻类的增长过程, 效果很好。

关键词: 铜绿微囊藻; 斜生栅藻; 竞争参数; 共培养; “水华”

Experiments of mixed culture and calculation of competitive parameters between *Microcystis* (Cyanobacteria) and *Scenedesmus* (Green algae)CHEN De-Hui^{1,2}, LIU Yong-Ding¹, YUAN Jun-feng², ZHANG Zong-She², SONG Li-rong¹, CHEN Jian²

(1. Institute of Hydrobiology, the Chinese Academy of Sciences, Wuhan, 430072, China; 2. Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China)

Abstract: The experiments were carried out based on the competitive model of Lotka-Volterra. The growth pattern of *Scenedesmus obliquus* (Turp.) Kütz. is different from that of *Microcystis aeruginosa* Kütz.. The amount of *S. obliquus* in mixed culture is larger than that in pure culture during the beginning growth stages; but is smaller during the later growth stages. The amount of *M. aeruginosa* in mixed culture is always smaller than that in pure culture in the whole growth duration. The competitive parameter (conversion factor) of *M. aeruginosa* as an equivalent number of *S. obliquus* is 4.53 and vice versa is 0.65. They are calculated with the modified model; changing differentiated equation of the model into differential form, using the parameters K (the maximum capacity) and r (growth rate)-derived from pure culture, suggesting the reflection point (setting point of density-dependent regulation, the authors called) of the growth curves as the originated time. The inhibition effect of *M. aeruginosa* on *S. obliquus* is about seven times as that of *S. obliquus* on *M. aeruginosa*. It might be one of the reasons why the blue-green algae like *M. aeruginosa* would explode to ‘water-bloom’. The simulating curves of growth processes of two algae in mixed culture is rather similar with those observing, by the modified models with the values of those parameters.

Key words: *Microcystis aeruginosa* Kütz.; *Scenedesmus obliquus* (Turp.) Kütz. mixed culture; competitive parameters; water-bloom

文章编号: 1000-0933(1999)06-0908-06 中图分类号: Q949.2 文献标识码: A

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39370141)

参加本研究工作的还有梅志平, 葛东菱和孟志芳等同志。

收稿日期: 1997-10-16; 修订日期: 1998-10-25

竞争关系是种间关系的一种形式,自 Lotka-Volterra^[1]提出种群增长的双种竞争模型以后,Gause^[2]报道了两种酵母(*Saccharomyces cerevisia*, *Schizosaccharomyces kephir*)的共培养试验,其后 Park^[3], Birch^[4], Park, Leslie & Mertz^[5]分别报道了甲虫间的竞争关系。在高等植物方面, Wit^[6]对大麦和燕麦在空间上的竞争关系, Marshall 和 Jain^[7]对两种野生燕麦分别进行了种间竞争关系的研究。Holm & Armstrong^[8]报道了硅藻和微囊藻种间的相互作用,刘世枚和黎尚豪^[9]研究了两种绿藻种群间的相互作用。只有 Gause 简单地计算了两种酵母之间的竞争参数。为了深入探讨水体中优势种类之间的种间关系,本文主要报道铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa* Kütz.)和斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus* (Turp.) Kütz.)的共培养试验及其竞争抑制参数的计算。

1 材料和方法

1.1 材料 铜绿微囊藻(*M. aeruginosa* Kütz.)和斜生栅藻(*S. obliquus* (Turp.) Kütz.),均来自中国科学院水生生物研究所。保存在 14℃ 的光照培养箱中,在试验前两周转接到液体的藻类测试基本培养基(AAM)中,在试验前两天进行饥饿培养。

1.2 方法

1.2.1 试验的设置 分别以 HGZ 培养基和 1/2HGZ 培养基进行试验^[10],每次试验有 3 种处理,即栅藻的单种培养、微囊藻的单种培养,以及栅藻和微囊藻的共培养。每个处理组有 3 个重复。试验过程的所有操作都是在无菌条件下进行的。

1.2.2 接种藻液的准备 将饥饿培养的藻类离心,5000rpm,5min,去掉上清液,15mg/L NaHCO₃ 溶液洗涤,离心,去上清液,去除吸附性的营养,重复洗涤,离心 1 次,应用缺氮和缺磷的饥饿培养基稀释至接种所需的藻细胞浓度^[10]。

1.2.3 玻璃器皿的洗涤 试验所需的所有玻璃器皿经过冲洗后,在 0.1mol HCl 中浸泡 30min,经过双玻重蒸水冲洗、烘干,121℃ 高压蒸汽灭菌备用。

1.2.4 培养液浓度的设置和配制 将 HGZ 培养基 1/2HGZ 培养基和 AAM 培养基分别配成 100 倍的储藏母液^[11]。以 AAM 为基本成分,配制缺氮和缺磷的饥饿培养基,对栅藻和微囊藻进行饥饿培养。

1.2.5 接种培养 微囊藻和栅藻的初始密度为 4.0×10^4 细胞/ml,在 120 或 150ml 的锥形瓶中,先加入 49 或 48ml 的培养液,然后每瓶加入 1ml 的接种藻液。日光灯冷光源, $120 \pm 7 \mu\text{mol/s} \cdot \text{m}^2$,光周期 12L:12D。培养温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$,在光照期间每隔 2h 摇动培养瓶 1 次。

1.2.6 细胞计数 自接种的次日起为第 1 天,在同一时间计数直到藻类的数量增长小于或等于 5% 为止。利用微量吸液器吸取 1ml 的藻类培养液,移至经高压灭菌的加有 0.05ml 鲁哥氏液的青霉素瓶中,整个取样过程都是在无菌操作台上进行的。采用平板计数法,在 Olympus 双筒显微镜下,进行细胞计数,取得每日(t)细胞数(N_t)。

1.3 数据整理

1.3.1 生长曲线的拟合 以逻辑斯谛方程拟合藻类的增长过程。首先进行参数估计,每个处理组的最大生物量(X_{max})作为各自 K 的估计值。应用逻辑斯谛方程的对数形式 $\text{Ln}((K-N)/N) = a - rt$,以最小二乘法进行回归分析,获得该方程的斜率和截距作为 a 和 r 的估计值。

1.3.2 竞争抑制参数的计算 利用 Lotka-Volterra 的竞争模型的差分形式:

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

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

式中, N_m, N_{m-1} 分别为共培养中栅藻和微囊藻在时间 t_n 时的数量($\times 10^4$ cells/ml); N_{m-1}, 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($\times 10^4$ cells/ml); r_m, 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_m, 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); α, β 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。

1.3.3 抑制起始点的确定 即藻类增长曲线的拐点,为逻辑斯谛方程二阶导数等于零时的时间 t_r 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。

1.3.4 回归分析、齐性检验、数据处理和曲线图绘制均在微软公司的中文 EXCEL 5.0 上进行。

2 结果和分析

2.1 HGZ 培养基中栅藻和微囊藻的共培养试验

HGZ 培养基栅藻和微囊藻的共培养试验结果,即栅藻、微囊藻在纯培养和共培养中增长过程见图 1。在第 1 天到第 5 天之间纯培养中栅藻的细胞数小于共培养中的细胞数,在 5 天之后则反之;微囊藻则是在整个培养过程中纯培养中的细胞数总是大于共培养中的细胞数。栅藻在纯培养和共培养中的最大生物量分别为 2367.2×10^4 ml 和 1054.9×10^4 细胞个/ml;微囊藻的则分别为 837.3×10^4 和 322.8×10^4 细胞个/ml。对 HGZ 中纯培养和共培养中栅藻和微囊藻生长过程进行逻辑斯谛方程($N=K/(1+e^{a-rt})$, $\times 10^4$ cells/ml)的参数估计并计算其拐点出现的时间,其结果见表 1。

表 1 HGZ 共培养和纯培养中栅藻和微囊藻的逻辑斯谛方程($N=K/(1+e^{a-rt}) \times 10^4$ Cells/ml)参数、回归系数及其拐点出现的时间

Table 1 The parameters, regression coefficient and the reflection point's time of Logistics equation ($N=K/(1+e^{a-rt}) \times 10^4$ Cells/ml) of two algae grown in pure culture and mixed culture with HGZ medium

	参数 K	参数 a	参数 r	回归系数	拐点(d)
	Parameter K	Parameter a	Parameter r	Regression coefficient	t_p
纯培养栅藻(P) ^①	2367.2	5.552	0.644	0.978	9.7(9)
共培养栅藻(M) ^②	1054.9	4.305	0.628	0.969	8.0(8)
纯培养微囊藻(P) ^③	837.3	5.201	0.642	0.988	9.2(9)
共培养微囊藻(M) ^④	322.8	4.712	0.607	0.981	8.1(8)

括号中 P 表示纯培养, M 表示共培养, 以下类同。P in parenthesis means with pure culture and M means with mixed culture, the same below. ① *S. obliquus*, ② *S. obliquus*, ③ *M. aeruginosa*, ④ *M. aeruginosa*

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(α, β)见表 2。则拐点之后微囊藻对栅藻的竞争抑制参数(α)的平均值和栅藻对微囊藻的竞争抑制参数(β)的平均值分别是 4.72 ± 1.36 和 0.56 ± 0.18 。

表 2 HGZ 共培养栅藻和微囊藻在拐点出现后的现存量(细胞密度 $\times 10^4$ cells/ml)及其竞争抑制参数

Table 2 The standing crop(10^4 cells/ml) and the competitive parameters (α and β) of *M. aeruginosa* and *S. obliquus* after t_p with HGZ medium

培养时间 Incubating date	7	8	9	10	11	12	13
共培养栅藻 <i>S. obliquus</i> (M)	585.4	735.4	924.2	917.2	910.2	979.9	1054.9
共培养微囊藻 <i>M. aeruginosa</i> (M)	169.0	192.5	219.4	260.6	309.7	310.5	311.3
α		4.96	3.58	6.71	5.67	3.80	3.76
β		0.83	0.63	0.40	0.36	0.58	0.53

2.2 1/2HGZ 培养基栅藻和微囊藻的共培养试验

1/2HGZ 培养基栅藻和微囊藻的共培养试验结果,即栅藻、微囊藻在纯培养和共培养中的增长过程见图 2。在第 1、2 和第 4 天,纯培养中栅藻的细胞数小于共培养中的细胞数,在第 4 天之后则反之;微囊藻则是在整个培养过程中纯培养中的细胞数总是大于共培养中的细胞数。它们的最大生物量分别为 1629.5×10^4 , 678.3×10^4 cells/mL 和 662.6×10^4 , 301.4×10^4 cells/mL。对共培养中栅藻和微囊藻生长过程进行逻辑斯谛方程($N=k/(1+e^{a-rt})$, $\times 10^4$ cells/ml)拟合,拟合方程的参数、回归系数(Cr)及其拐点出现的时间见表 3。

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

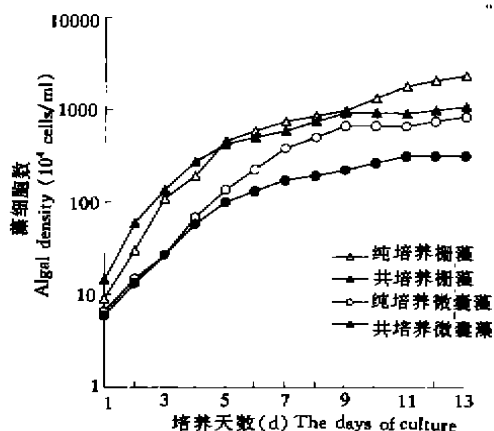


图1 HGZ 共培养和纯培养中栅藻和微囊藻的生长曲线
Fig. 1 The growth curves of *M. aeruginosa* and *S. obliquus* both in mixed culture and in pure culture respectively with HGZ medium

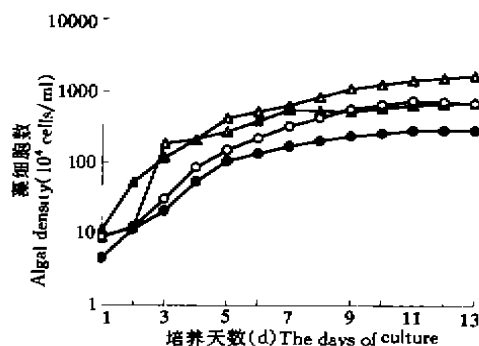


图2 1/2HGZ 共培养和纯培养中栅藻和微囊藻的生长曲线
Fig. 2 The growth curves of *M. aeruginosa* and *S. obliquus* both in mixed culture and in pure culture respectively with 1/2HGZ medium

算各自的竞争抑制参数(α, β)见表4。则拐点之后微囊藻对栅藻的竞争抑制参数(α)的平均值和栅藻对微囊藻的竞争抑制参数(β)的平均值分别是 4.36 ± 1.66 和 0.73 ± 0.05 。

表3 1/2HGZ 共培养中的栅藻和微囊藻增长的逻辑斯谛方程($N = K / (1 + e^{-a(t-t_0)}) \times 10^4 \text{ cells/ml}$)参数、回归系数和方程拐点出现的时间

Table 3 The parameters, regression coefficient and the reflection point time of Logistics equation [$N = K / (1 + e^{-a(t-t_0)}) \times 10^4 \text{ cells/ml}$] of two algae grown in pure culture and mixed culture with HGZ medium

	参数 K Parameter K	参数 a Parameter a	参数 r Parameter r	回归系数 Regression coefficient	拐点(d) t_p
纯培养栅藻(P) ^①	1629.5	5.247	0.668	0.973	8.9(8)
共培养栅藻(M) ^②	678.3	3.727	0.519	0.951	8.5(8)
纯培养微囊藻(P) ^③	662.6	4.881	0.635	0.978	8.8(8)
共培养微囊藻(M) ^④	301.4	4.040	0.560	0.984	8.4(8)

① *S. obliquus*, ② *S. obliquus*, ③ *M. aeruginosa*, ④ *M. aeruginosa*

表4 1/2HGZ 共培养栅藻和微囊藻在拐点出现后的现存量($\times 10^4 \text{ cells/ml}$)及其竞争抑制参数

Table 4 The standing crop(10^4 cells/ml) and the competitive parameters of *M. aeruginosa* and *S. obliquus* after reflection point with 1/2 HGZ medium in mixed culture

培养时间 Incubating date	7	8	9	10	11	12	13
共培养栅藻 <i>S. obliquus</i> (M)	541.1	527.6	514.4	565.0	620.6	648.8	678.3
共培养微囊藻 <i>M. aeruginosa</i> (M)	168.9	197.7	231.3	252.8	276.2	276.4	276.5
α		6.80	5.88	3.79	3.26	3.25	3.15
β		0.71	0.67	0.80	0.69	0.77	0.73

3 讨论

3.1 种间竞争模型 一般情况下,两个种群相互关系的非线性微分方程组,不能以显式的形式解出^[12],

$$dx/dt = x(b_1 - a_{11}x - a_{12}y) \quad (3)$$

$$dy/dt = y(b_2 + a_{21}x + a_{22}y) \quad (4)$$

陈兰荪等^[15]讨论了上述方程(3)和(4)后,指出平衡点 (x^*, y^*) 存在的必要条件和充分条件。全局稳定的充分条件是正平衡点 $(x^* > 0, y^* > 0)$ 存在, $a_{11} < 0, a_{22} < 0$, 即每一个种群本身是密度制约的。藻类的增长象其它的微小生物(如细菌、酵母)一样是属于这种状况的^[14]。于是上述方程组就转化为 Lotka-Volterra 的竞争模型:

$$dx/dt = x r_1 (K_1 - x - \alpha y) / K_1 \quad (5)$$

$$dy/dt = y r_2 (K_2 - y - \beta x) / K_2 \quad (6)$$

3.2 参数计算 这里速率对于甲乙两种数量的关系仍然是非线性的,为了解出竞争抑制参数,需要把问题简化。种群资源竞争的过程是一个与很多因素有关的过程。在两次试验中营养和光强都是饱和的,在其它条件都是相同时,这两种藻类共培养中的数量变化,主要是受另一种藻类的影响。此时假设共培养中,如果没有另外一个种的存在,则该种的增长行为应该和单种培养时的增长行为相同。所以,应该利用纯培养的参数,而不是以共培养过程确定的参数,代入 Lotka-Volterra 双种竞争模型的差分形式,进行竞争抑制参数的计算。种群的最大密度 K 值和种群的增长率 r 值由纯培养试验中确定。同时以合适的单位时间测定种群的数量增长过程,这样数量增长的微分方程组就可以用差分方程组的方式来表示,由此两个参数的求解过程,就转化为解一个线性的二元一次方程组,即方程式(1)和(2)联立。这样藻类共培养时竞争状态何时出现,成为解出竞争抑制参数的关键。通过对藻类增长过程的观察和分析,在整个增长过程中,藻类的增长有一个从正加速到负加速的过程,即在增长曲线的拐点之后,藻类的增长过程减缓并逐渐趋于平衡。由此作者认为,拐点的生物学意义表示生物个体从自由的快速增长阶段转入了竞相利用有限资源的相互抑制的生长阶段,称为密度制约的起始点(setting point),或抑制起始点。因此,计算抑制起始点之后的竞争抑制参数,才具有生态学意义。

3.3 竞争参数 X^2 检验 两次共培养试验两种藻类的竞争抑制参数计算的结果见表 2、表 4,在拐点出现之后,随着培养时间的增加,竞争参数的值,越来越趋向于某一个值,即某一个常数。两次试验中,微囊藻对栅藻的抑制参数(α)分别为 4.72 和 4.36;栅藻对微囊藻的抑制参数(β)分别为 0.56 和 0.73。对两次试验同一时间得到的 α 值或 β 值的齐性测验可知,它们的 x^2 分别为 2.30 和 0.17,都小于 $x_{0.10,5}^2(9.24)$ 差异均不显著($p > 0.10$),实际上差异不显著的概率大于 50% [$x_{0.50,5}^2(4.27)$],差异是由试验误差产生的。两次试验的 α 和 β 的平均值及其 95% 的置信区间分别为 4.5 ± 0.88 和 0.65 ± 0.10 。这同时表明这一类参数在非限制性营养条件下(饱和营养浓度以上)是不受营养浓度影响的。

3.4 竞争参数的说明 在共培养试验中,竞争抑制参数是一个种对另一个种的转化因子。即乙种(微囊藻)的单位数量(N_m)相当于多少个甲种(栅藻)的单位数量(N_r), $\alpha = N_r / N_m$,对甲种数量增长的影响,反之亦然。这种相对的数量关系,在两个种是不同的,但也不是互为倒数关系。这种不同可能与每个种新陈代谢的内在过程、步骤和速度等因素有关。从上述的结果可知微囊藻对栅藻的抑制能力相对而言是栅藻对微囊藻抑制能力的 7 倍,这或许可以从一个方面说明,在合适的条件下,微囊藻为什么能够爆发成为“水华”的理由之一,因为它可能抑制了许多其它绿藻的生长。同时竞争参数是在室内条件下,经试验和计算取得的,若外推应用于其它状态下的种间关系,则要慎重地考虑其背景条件。

3.5 曲线的拟合 对于这两次的共培养试验,利用竞争模型的差分形式,计算栅藻和微囊藻生长过程模拟的拟合曲线分别见图 3 和图 4。将其分别与图 1 和图 2 的生长曲线比较,对增长趋势的模拟极其相似。

参考文献

- [1] Volterra V. Fluctuation in the abundance of a species considered mathematically. *Nature*, 1926, 118:558~560.
- [2] Gause G F. Experimental studies on the struggle for existence I. Mixed population of two species of yeast. *Journal of experimental biology*, 1932, 9:389~402.
- [3] Park T. Experimental studies of interspecies competition. I Competition between population of flour beetles, *Tribolium confusum* Duval and *Tribolium castaneum* Aerbst. *Ecological monography*, 1998, 18:265~307.
- [4] Birch L C. Experimental background to the study of the distribution and abundance of insects. The relation be-

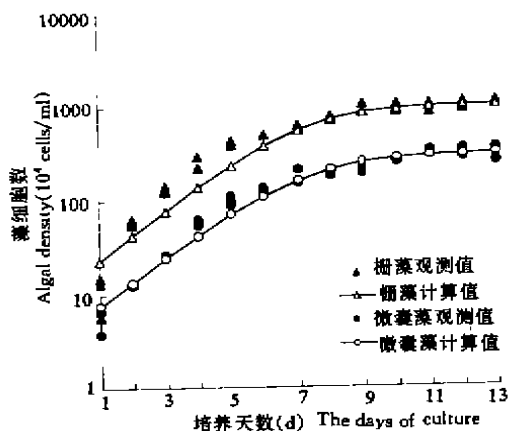


图3 在HGZ共培养中栅藻和微囊藻增长的模拟曲线及其观测值

Fig. 3 The simulating growth curves and their observing values of *M. aeruginosa* and *S. obliquus* in mixed culture respectively with HGZ medium

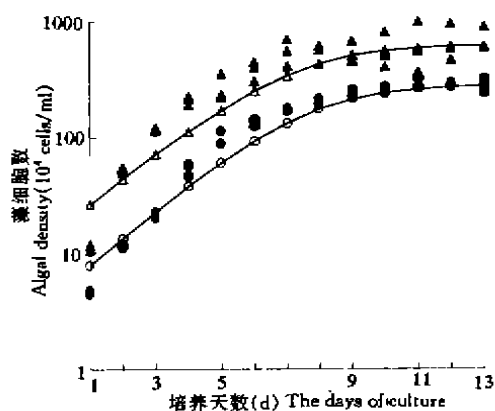


图4 在1/2HGZ共培养和栅藻和微囊藻增长的模拟曲线及其观测值

Fig. 4 The simulating growth curves and their observing values of *M. aeruginosa* and *S. obliquus* in mixed culture respectively with 1/2HGZ medium

tween innate capacity for increase and survival of different species of beetles living together on the same food. *Evolution*, 1953b, 7:136~44.

- [5] Park T, Leslie P H & Mertz D B. Genetic strains and competition in populations of *Tribolium*. *Physiol. Zool.* 1964, 37:97~162.
- [6] Wir C T DE. *On competition*. Versl. Landbouwk. No. 66. Wageningen, Netherlands. 1960. 82.
- [7] Marshall D R & Jain S K. Interference in pure and mixed populations of *Avena fatua* and *A. barbata*. *Journal Ecology*, 1969, 57:251~70.
- [8] Holm N P & Armstrong. Role of nutrient limitation and competition in controlling the population *Asterionella formosa* and *Microcystis aeruginosa* Kütz in semicontinuous culture *Limnology and Oceanograph*, 1981, 26:672~684.
- [9] 刘世枚, 黎尚豪. 两种蓝藻种群间的相互作用. *植物学报*, 1991, 33:110~117.
- [10] 章宗涉. 藻类在污染监测中的作用. 沈耀芬等著“微型生物监测新技术”. 北京: 中国建筑出版社, 1990. 119~151.
- [11] APHA. *Standard methods for the examination of water and wastewater* (16th edition). American Public Health Association, Washington D. C., 1985. 772, 801, 863.
- [12] 皮洛 E C. 卢泽愚译. 数学生态学引论. 北京: 科学出版社, 1978. 58~65.
- [13] 陈兰荪. 非线性生物动力学系统. 北京: 科学出版社, 1993. 60~63.
- [14] 崔启武, 刘家冈. 生物种群增长的营养动力学. 北京: 科学出版社, 1991. 78~92, 131~150.