

# 地衣芽孢杆菌与3种微藻生长的相互影响

李卓佳<sup>1</sup>, 王少沛<sup>1,2</sup>, 曹煜成<sup>1</sup>, 陈素文<sup>1</sup>, 文国樑<sup>1</sup>

(1.中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东 广州 510300; 2.广东海洋大学, 广东 湛江 524000)

**摘要:**为弄清水产养殖中常用的有益菌——地衣芽孢杆菌和3种常见的浮游微藻的相互关系,本文采用陈海水配制的无机培养液和对虾养殖池水,分别研究了地衣芽孢杆菌对微绿球藻、隐藻和颤藻的影响以及这几种微藻对地衣芽孢杆菌的反作用。以通径分析法分析微绿球藻、隐藻和地衣芽孢杆菌对颤藻直接和间接影响力的大小。结果发现,地衣芽孢杆菌对微绿球藻有一定的抑制作用,对隐藻的促进作用明显,而对颤藻的作用效果不明显;在与微绿球藻和隐藻混合培养时,地衣芽孢杆菌生长正常,仅在藻细胞密度较大时受到一定程度的抑制;在与颤藻混合培养时,地衣芽孢杆菌受到明显的抑制作用。通径分析结果发现,地衣芽孢杆菌与微绿球藻协同对颤藻产生抑制作用,而隐藻对颤藻的作用较弱。

**关键词:**地衣芽孢杆菌;微绿球藻;隐藻;颤藻;关系

中图分类号:X172 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2009)04-0839-06

## The Interaction Between *Bacillus Licheniformis* and 3 Kinds of Microalga

LI Zhuo-jia<sup>1</sup>, WANG Shao-pei<sup>1,2</sup>, CAO Yu-cheng<sup>1</sup>, CHEN Su-wen<sup>1</sup>, WEN Guo-liang<sup>1</sup>

(1.South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China; 2.Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524000, China)

**Abstract:** In order to investigate the relationship between *Bacillus Licheniformis* and 3 kinds of Microalga in aquaculture, *Nannochloropsis oculata*, *Cryptomonas erosa* and *Oscillatoria* sp. had been cultivated in inorganic solution which was made up with aging seawater. The direct influence power and indirect influence power of *Nannochloropsis oculata*, *Cryptomonas erosa* and *bacillus licheniformis* had been studied with the path analysis method. The experimental results indicated that: *Bacillus licheniformis* can inhibit *Nannochloropsis oculata*, promote *Cryptomonas erosa* growth but had no obvious effect on *Oscillatoria* sp.. The maximum biomass of *Cryptomonas erosa* was  $392 \times 10^4 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$  when it was mix-cultured with *Bacillus Licheniformis* and it was  $182.3 \times 10^4 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$  in single-culture groups. When mix *bacillus licheniformis* with *Nannochloropsis oculata* and *Cryptomonas erosa*, it could grow normally. The growth of *Bacillus licheniformis* will be inhibited only when the algal cell density was increased. But when mixed *bacillus licheniformis* with *Oscillatoria* sp., it was inhibited significantly. There was a significant negative correlation between *Bacillus Licheniformis* and *Oscillatoria* sp. ( $r=-0.889, P=0.003$ ). The path analysis results indicate that: *Bacillus licheniformis* and *Nannochloropsis oculata* could synergistically inhibit *Oscillatoria* sp.. From the decision coefficient ( $R^2=-0.925$ ), we could see that *Nannochloropsis oculata* was the main limiting factor. *Cryptomonas erosa* had minor effects to *Oscillatoria* sp.. The decision coefficient of *Cryptomonas erosa* was 0.008 2.

**Keywords:** *Bacillus licheniformis*; *Nannochloropsis oculata*; *Cryptomonas erosa*; *Oscillatoria* sp.; relationship

微藻是水域生态系统中的生产者之一,在水产养殖环境中起增加溶氧、降解氮磷等营养盐和为早期的水产动物提供优质饵料等重要作用。而细菌是重要的

收稿日期:2008-07-03

基金项目:十一五国家支撑计划(2006BAD09A11/2006BAD09A07);广东省自然科学基金(5003485);广东省科技计划(2006B20601009);广东省重大科技兴渔项目(A200601A01、A200601A04);中央级科研院所基本科研专项(2007ZD01)

作者简介:李卓佳(1956—),女,广东揭阳人,研究员,从事对虾养殖和水环境调控与修复研究。E-mail:zhuojiali609@163.com

分解者,能够降解有机物,在物质和能量循环中的作用举足轻重。据研究,某些异养细菌能够快速分解藻类所分泌的有机物及死亡的藻细胞,并将其转化成小分子物质供微藻利用<sup>[1-5]</sup>,有的细菌甚至能够分泌维生素B<sub>12</sub>等物质,与藻类形成共生关系<sup>[6]</sup>。目前微生态制剂在水产养殖中已得到广泛应用,一些有益菌对水生态调控具有明显的效果<sup>[7-10]</sup>,但这些有益菌对水中另一类重要的微生物——微藻的影响及有益菌在水中的变化规律则少有研究。本文以较常用的有益菌——

地衣芽孢杆菌和对虾养殖池中几种优势微藻为研究对象,研究地衣芽孢杆菌与微藻的相互作用,为在养殖生产中更好地使用有益菌提供理论依据。据 Lathrop<sup>[1]</sup>研究,增加无机氮以改变氮磷比不能使水体免于发生水华,较低的氮磷比只是水华发生的前兆而不是原因,磷的浓度过高才是真正原因,所以要抑制蓝藻的爆发应该从其他思路考虑。本实验也验证是否能够通过有益菌和微藻协同作用来抑制颤藻的生长。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

微绿球藻(*Nannochloropsis oculata*)、隐藻(*Cryptomonas erosa*)和颤藻(*Oscillatoria*)均分离自广东省湛江市东海岛的对虾养殖池,保种于中国水产科学研究院南海水产研究所;地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)由中国水产科学研究院南海水产研究所自行筛选、分离保存。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 培养条件

微藻以500 mL锥形瓶培养,恒温循环器水浴控温,温度为26~28℃,光照强度4 000 lx,光暗比12:12,盐度15,每3 h摇动藻液1次,实验周期为16 d。

#### 1.2.2 容器及培养液的处理

锥形瓶经120℃高温灭菌备用。

无机培养液:陈海水煮沸冷却后加入NaNO<sub>3</sub>、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>和柠檬酸铁,使N、P和Fe的浓度分别达到14.2和0.14 mg·L<sup>-1</sup>。

对虾养殖池水培养液:从养殖池取水用氯仿固定,测其氮、磷和COD作为本底参照,再取养殖水煮沸测氮、磷和COD,以NaNO<sub>3</sub>、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>和饵料浸出液调节至符合本底的无机氮0.63 mg·L<sup>-1</sup>、无机磷0.40 mg·L<sup>-1</sup>、COD 7.80 mg·L<sup>-1</sup>。

#### 1.2.3 实验分组

以无机培养液和对虾养殖池水培养液分别对3种微藻做单种藻和地衣芽孢杆菌混合培养,另设不加菌的微藻培养作为对照。每个组设3个平行。

在对虾养殖池水培养液中分别将3种微藻两两混合培养及3种藻混合培养,加入地衣芽孢杆菌,另设不加菌的微藻培养作为对照。每个组设3个平行。

#### 1.2.4 接种

将藻液以10 000 r·min<sup>-1</sup>离心5 min,去掉上清液;重复洗涤,离心1次,去除原培养液中的营养;接入500 mL锥形瓶中,使各种微藻的初始密度均为7×

10<sup>4</sup> cells·mL<sup>-1</sup>。

地衣芽孢杆菌液以8 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,去掉上清液;重复洗涤,离心1次,接入500 mL锥形瓶中,使地衣芽孢杆菌细胞密度达到5×10<sup>4</sup> CFU·mL<sup>-1</sup>。

#### 1.2.5 取样及测定

每2 d取1次藻样,以甲醛固定,用血球计数板在显微镜下计数(颤藻经过超声波破碎后计数),取得细胞数(N<sub>2d</sub>)。

地衣芽孢杆菌以稀释平板法计数<sup>[12]</sup>,每2 d测定1次。

### 1.3 统计分析

以配对样本t检验分析加菌对藻细胞密度的影响;以简单相关分析法分析地衣芽孢杆菌和各种微藻细胞增长的相关性;以通径分析法分析地衣芽孢杆菌和各种微藻对颤藻的影响。

## 2 结果与分析

### 2.1 无机培养液中地衣芽孢杆菌对3种微藻的影响

无机培养液中各组微藻生长情况如图1~3所示。在微绿球藻和地衣芽孢杆菌混合培养组中,培养初期地衣芽孢杆菌对微绿球藻具有促进作用,培养的前2 d菌藻混合组微绿球藻平均生长速率为0.47,明显大于单培养组的0.40,但从第4 d开始,地衣芽孢杆菌对微绿球藻起抑制作用,单培养组微绿球藻的生长速率大于加菌组,第6~16 d两组微绿球藻的生物量差异显著(P<0.05)。在隐藻和地衣芽孢杆菌混合培养组中,地衣芽孢杆菌对隐藻的生长起明显促进作用,第6~14 d菌藻混合组隐藻生物量显著高于单培养组(P<0.05)。在颤藻和地衣芽孢杆菌混合培养组中,地衣芽孢杆菌对颤藻生物量的影响很小,各取样节点菌藻混合组和颤藻单培养组的差异均不显著。

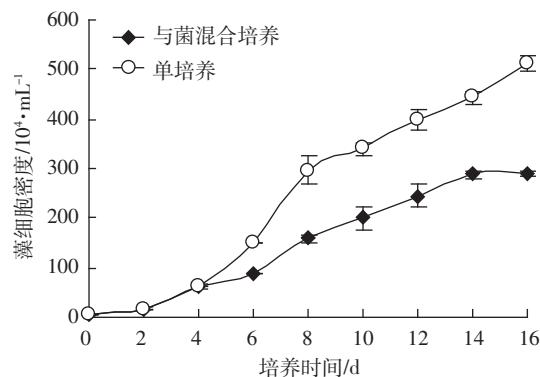


图1 芽孢杆菌对微绿球藻的影响

Figure 1 Effect of *Bacillus licheniformis* on *Nannochloropsis oculata*

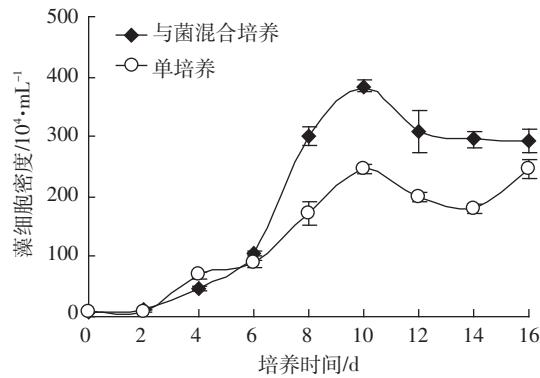


图2 芽孢杆菌对隐藻的影响

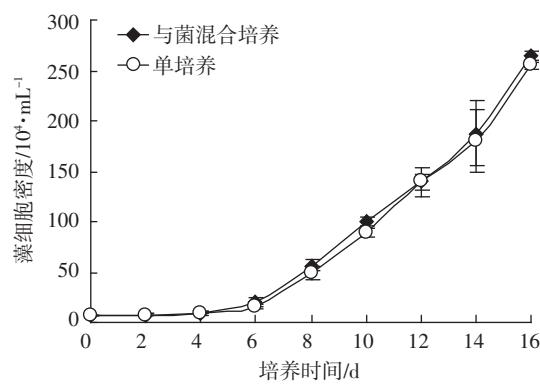
Figure 2 Effect of *Bacillus licheniformis* on *Cryptomonas erosa*

图3 芽孢杆菌对颤藻的影响

Figure 3 Effect of *Bacillus licheniformis* on *Oscillatoria*

## 2.2 对虾养殖池水培养液中地衣芽孢杆菌对3种微藻的影响

对虾养殖池水培养液中各组微藻生长情况如图4~6所示。在微绿球藻和地衣芽孢杆菌混合培养组中,培养初期地衣芽孢杆菌对微绿球藻起促进作用,培养的前2 d 菌藻混合组微绿球藻生长速率0.56远大于单培养组的0.27,但从第4 d开始,地衣芽孢杆菌对微绿球藻起抑制作用,第4~16 d 菌藻混合组微绿球藻生物量小于单培养组,差异显著( $P<0.05$ ),且菌藻混合组微绿球藻的平均生长速率0.27小于单培养组的0.30。在隐藻和地衣芽孢杆菌混合培养组中,地衣芽孢杆菌对隐藻的促进作用更加明显,菌藻混合组隐藻的平均生长速率0.25大于单培养的0.20,第4~16 d 菌藻混合组和单培养组的隐藻生物量差异显著( $P<0.05$ ),最大生物量分别为 $392 \times 10^4 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $182.3 \times 10^4 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。在颤藻和地衣芽孢杆菌混合培养组中,地衣芽孢杆菌对颤藻的影响不大,只有第6 d时菌藻混合组的颤藻生物量显著大于单培养组( $P<0.05$ )。

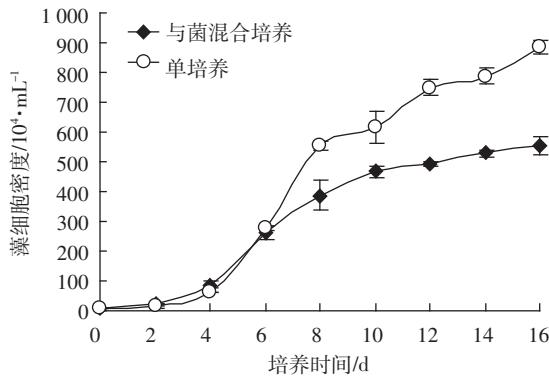


图4 芽孢杆菌对微绿球藻的影响

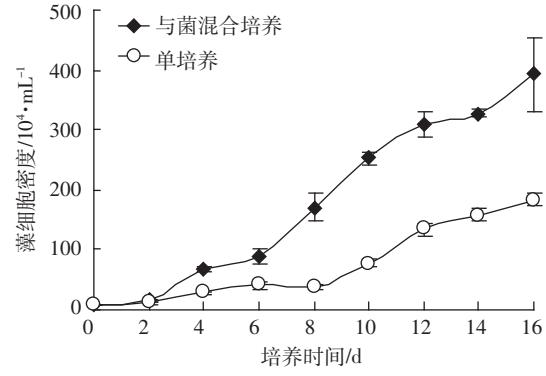
Figure 4 Effect of *Bacillus licheniformis* on *Nannochloropsis oculata*

图5 芽孢杆菌对隐藻的影响

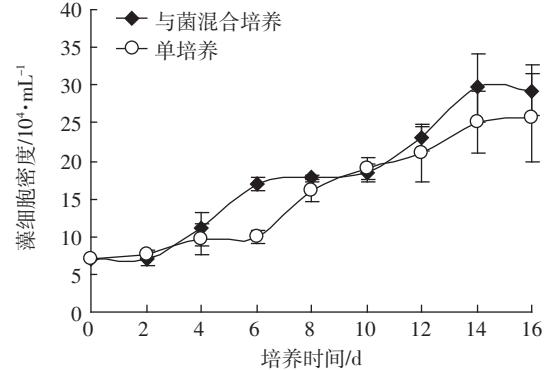
Figure 5 Effect of *Bacillus licheniformis* on *Cryptomonas erosa*

图6 芽孢杆菌对颤藻的影响

Figure 6 Effect of *Bacillus licheniformis* on *Oscillatoria*

## 2.3 3种微藻对地衣芽孢杆菌的影响

无机培养液中地衣芽孢杆菌生物量变化如图7所示。实验周期中地衣芽孢杆菌单培养的生物量远高于菌藻混合培养组,最高生物量为 $11.8 \times 10^4 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;地衣芽孢杆菌与微绿球藻混合培养组中,菌和藻生物量的相关系数 $r=-0.699$ , $P=0.054$ (在 $\alpha=0.05$ 水平下线性关系不显著),在第6~8 d 微绿球藻达到较高生物量时,地衣芽孢杆菌受到抑制,而后又有所回升;地

衣芽孢杆菌与隐藻混合培养组中,菌和藻的生物量显著负相关  $r=-0.894, P=0.003$  (在  $\alpha=0.01$  水平下线性关系显著),在培养的前2d藻细胞密度较低时,地衣芽孢杆菌受到促进,随着藻细胞密度的增大,地衣芽孢杆菌逐渐被抑制,第16d菌的生物量为  $2.3 \times 10^4 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;地衣芽孢杆菌与颤藻混合培养组中,菌和藻的生物量显著负相关  $r=-0.765, P=0.027$  (在  $\alpha=0.05$  水平下线性关系显著),地衣芽孢杆菌一直被抑制,其生物量在第16d为  $0.2 \times 10^4 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

对虾养殖池水培养液中地衣芽孢杆菌生物量变化如图8所示。实验周期中地衣芽孢杆菌单培养的生物量远远高于菌藻混合培养组,最高生物量达到  $54 \times 10^4 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;地衣芽孢杆菌与微绿球藻混合培养组中,菌和藻的生物量线性关系不显著 ( $r=-0.386, P=0.345$ ),菌的生物量在  $4.1 \times 10^4 \sim 7.3 \times 10^4 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$  之间波动;地衣芽孢杆菌与隐藻混合培养组中,菌和藻的生物量线性关系也不显著 ( $r=-0.331, P=0.423$ );地衣芽孢杆菌与颤藻混合培养组中,培养初期地衣芽孢

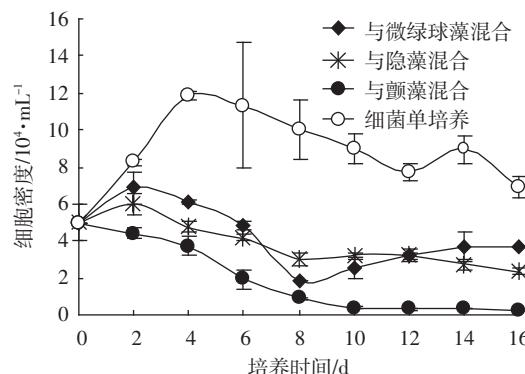


图7 无机培养液中各组的芽孢杆菌生物量变化

Figure 7 Change of *Bacillus licheniformis* biomass in inorganic culture solution

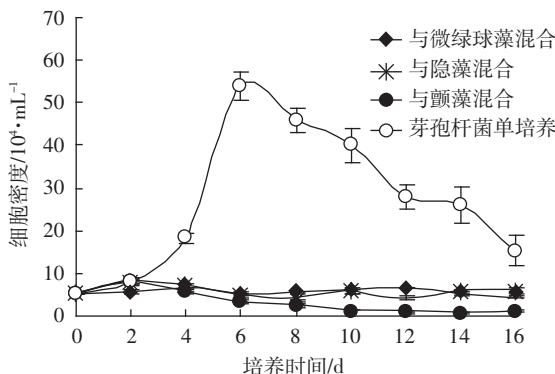


图8 对虾养殖池排出水中芽孢杆菌生物量的变化

Figure 8 Change of *Bacillus licheniformis* biomass in the effluent water of cultured prawn pond

杆菌生长快速,但第2d起即受到明显的抑制,菌和藻的生物量呈显著的负相关 ( $r=-0.889, P=0.003$ )。

#### 2.4 藻-菌混合培养中颤藻所受影响的途径分析

##### 2.4.1 微绿球藻+颤藻+地衣芽孢杆菌混合培养中颤藻受到的影响

通径分析结果如表1所示。微绿球藻生物量( $X_n$ )对颤藻生物量( $Y_o$ )的直接作用为1.477,但地衣芽孢杆菌生物量( $X_b$ )对微绿球藻生物量( $X_n$ )的负作用减弱了微绿球藻生物量( $X_n$ )对颤藻生物量( $Y_o$ )的正作用,所以微绿球藻生物量( $X_n$ )对颤藻生物量( $Y_o$ )的总作用为0.9023,小于其直接作用。同样,微绿球藻生物量( $X_n$ )对地衣芽孢杆菌生物量( $X_b$ )的负作用使地衣芽孢杆菌生物量( $X_b$ )成为主要的限制因子(即限制颤藻生物量( $Y_o$ )变化的主要因素)。颤藻和微绿球藻及地衣芽孢杆菌间的多元线性回归模型为  $y=-29.421+0.217X_n+5.262X_b (R^2=0.849, F=14.038, P=0.009)$ 。

表1 微绿球藻+颤藻+菌组中颤藻受到的影响

Table 1 The effects on *Oscillatoria* in the “*Nannochloropsis oculata*+*Oscillatoria*+*Bacillus licheniformis*” group

通径	直接作用 $b_i^*$	$X_i$ 通过 $X_k$ 对 $Y_o$ 的间接作用		$R^2(i)$
		$r_{xkb} b_k^*$	$r_{xy}$	
$X_n$ 对 $Y_o$	1.477	$X_n \leftrightarrow X_b \Leftrightarrow Y_o$	-0.574 66	0.902 34 0.484 0
$X_b$ 对 $Y_o$	0.603	$X_b \leftrightarrow X_n \Leftrightarrow Y_o$	-1.407 58	-0.804 58 -1.333 9
$e$ 对 $Y_o$	0.388 6			0.388 6 0.151 01

注: $X_n$  表示微绿球藻生物量, $X_b$  表示地衣芽孢杆菌生物量, $Y_o$  表示颤藻生物量, $e$  表示剩余因素。

$$R_1^2 = b_1^2 = (1.477)^2 = 2.1815, \text{ 同理, } R_2^2 = 0.3636$$

$$R_{12}^2 = 2b_1^* r_{xkb} b_2^* = 2 \times 1.477 \times (-0.953) \times 0.603 = -1.6975$$

$$R^2(1) = R_1^2 + R_{12}^2 = 2.1815 - 1.6975 = 0.4840。 \text{ 下同。}$$

##### 2.4.2 隐藻+颤藻+地衣芽孢杆菌混合培养中颤藻受到的影响

通径分析结果如表2所示。隐藻生物量( $X_c$ )对颤藻生物量( $Y_o$ )的直接负作用较小,为-0.004,而地衣芽孢杆菌生物量( $X_b$ )对隐藻生物量( $X_c$ )的正作用加强了隐藻生物量( $X_c$ )对颤藻生物量( $Y_o$ )的总作用,也加强了地衣芽孢杆菌生物量( $X_b$ )对颤藻生物量( $Y_o$ )的总作用,但不明显。地衣芽孢杆菌生物量( $X_b$ )的决定系数远大于隐藻生物量( $X_c$ ),说明地衣芽孢杆菌生物量( $X_b$ )是主要的决策变量,也就是说,地衣芽孢杆菌生物量( $X_b$ )是对颤藻生物量( $Y_o$ )的主要影响因子。颤藻与隐藻、地衣芽孢杆菌间的多元线性回归模型为  $y=32-0.002X_c-4.326X_b (R^2=0.885, F=19.240, P=0.004)$ 。

表2 隐藻+颤藻+菌组中颤藻受到的影响

Table 2 The effects on *Oscillatoria* in the “*Cryptomonas erosa*+*Oscillatoria*+*Bacillus licheniformis*” group

通径	直接作用 $b_i^*$	$X_i$ 通过 $X_k$ 对 $Y_o$ 的间接作用	$X_i$ 对 $Y_o$ 的总作用	$R^2(i)$
$X_c$ 对 $Y_o$	-0.004	$X_c \Leftrightarrow X_b \diamond Y_o$	-0.631 3	-0.635 3 0.005 05
$X_b$ 对 $Y_o$	-0.938	$X_b \Leftrightarrow X_c \diamond Y_o$	-0.002 7	-0.940 7 0.884 9
$e$ 对 $Y_o$	0.339 1		0.339 1	0.114 99

注： $X_c$  表示隐藻生物量， $X_b$  表示地衣芽孢杆菌生物量， $Y_o$  表示颤藻生物量， $e$  表示剩余因素。

#### 2.4.3 微绿球藻+隐藻+颤藻+地衣芽孢杆菌混合培养中颤藻受到的影响

通径分析结果如表3所示。微绿球藻生物量( $X_n$ )对颤藻生物量( $Y_o$ )的直接作用为-0.454,但地衣芽孢杆菌生物量( $X_b$ )与微绿球藻生物量( $X_n$ )的相关系数为-0.959,因此抵消了微绿球藻生物量( $X_n$ )对颤藻生物量( $Y_o$ )的负作用。地衣芽孢杆菌生物量( $X_b$ )与隐藻生物量( $X_c$ )的相关系数为-0.163,同样抵消了隐藻生物量( $X_c$ )对颤藻生物量( $Y_o$ )的负作用。从各变量对颤藻生物量( $Y_o$ )的总作用来看,微绿球藻生物量( $X_n$ )对颤藻生物量( $Y_o$ )的总作用最大,而地衣芽孢杆菌生物量( $X_b$ )对颤藻生物量( $Y_o$ )的负作用最大。从决策系数  $R^2(i)$  来看,地衣芽孢杆菌生物量( $X_b$ )为主要决策因素,而微绿球藻生物量( $X_n$ )为主要限制因素(即微绿球藻生物量( $X_n$ )限制了颤藻生物量( $Y_o$ )的变化)。颤藻和微绿球藻、隐藻及地衣芽孢杆菌间的多元线性回归模型为  $y=47.563-0.166X_n-0.241X_c-5.442X_b$  ( $R^2=0.879, F=9.675, P=0.026$ )。

表3 微绿球藻+隐藻+颤藻+菌组中颤藻受到的影响

Table 3 The effects on *Oscillatoria* in the “*Nannochloropsis oculata*+*Cryptomonas erosa*+*Oscillatoria*+*Bacillus licheniformis*” group

通径	直接作用 $b_i^*$	$X_i$ 通过 $X_k$ 对 $Y_o$ 的间接作用	$X_i$ 对 $Y_o$ 的总作用	$R^2(i)$
$X_n$ 对 $Y_o$	-0.454	$X_n \Leftrightarrow X_c \diamond Y_o$	-0.058 6	-0.925
		$X_n \Leftrightarrow X_b \diamond Y_o$	1.304 2	1.699 6
$X_c$ 对 $Y_o$	-0.157	$X_c \Leftrightarrow X_n \diamond Y_o$	-0.169 3	0.008 2
		$X_c \Leftrightarrow X_b \diamond Y_o$	0.221 7	0.234
$X_b$ 对 $Y_o$	-1.360	$X_b \Leftrightarrow X_n \diamond Y_o$	0.435 4	0.595 7
		$X_b \Leftrightarrow X_c \diamond Y_o$	0.025 6	-1.769 8
$e$ 对 $Y_o$	0.348		0.348	0.121 1

注： $X_n$  表示微绿球藻生物量， $X_c$  表示隐藻生物量， $X_b$  表示地衣芽孢杆菌生物量， $Y_o$  表示颤藻生物量， $e$  表示剩余因素。

### 3 讨论

微藻与细菌之间的关系复杂,在有光的情况下微藻通过光合作用吸收二氧化碳产生氧气,细菌则通过呼吸作用吸收氧气放出二氧化碳,从这方面看,两者是相互促进的;但在黑暗中微藻与细菌都只进行呼吸作用,这时两者又是相互竞争的。除此之外,微藻和细菌也通过胞外产物、营养物质循环等方面相互作用。不同的微藻也有不同的生理特性,本实验所选用的3种微藻分别来自不同的门,生理特性差别较大,这就使它们与地衣芽孢杆菌的作用结果不尽相同。微绿球藻在密度低时受到地衣芽孢杆菌的促进作用,而密度升高后被地衣芽孢杆菌所抑制;隐藻则一直受到地衣芽孢杆菌的明显促进作用;地衣芽孢杆菌对颤藻的作用程度小,加菌组和不加菌组的颤藻生物量差异不显著。

在单种微藻与地衣芽孢杆菌混合组中,培养初期微绿球藻和隐藻的细胞密度较低时地衣芽孢杆菌的生物量都有一定程度的增加,在微藻的指数生长期,随着藻细胞密度的增大,地衣芽孢杆菌渐渐受到抑制,但在培养后期微绿球藻组的地衣芽孢杆菌又有一定程度的增加。何曙阳和饶行<sup>[13]</sup>指出藻类在指数生长期释放出的有机物含量很少,进入稳定生长期后,开始大量释放胞外产物,到稳定生长期后期,开始出现细胞的死亡和溶解,使水体中有机物含量迅速增加,这可能也是与微绿球藻混合培养后期地衣芽孢杆菌生物量增加的原因。在与颤藻混合培养中,地衣芽孢杆菌均受到抑制。郑莲等<sup>[14]</sup>研究两种微藻对凡纳滨对虾养殖环境中细菌数量变化的影响,结果发现,微藻增加到一定密度时能够抑制弧菌的生长,这与本实验的研究结果类似。从这3种微藻对地衣芽孢杆菌的影响对比来看,颤藻对地衣芽孢杆菌的抑制是通过其胞外产物作用的,而非通过营养物质的竞争而产生作用的。

无机培养液和对虾养殖池水这两种培养液中,地衣芽孢杆菌对微藻的作用结果无明显变化。但在培养初期,对虾养殖池水中地衣芽孢杆菌对微绿球藻的促进作用更为明显,中后期对隐藻的促进作用更显著。笔者认为,地衣芽孢杆菌的作用力之所以得到提高,与培养液中的有机物有很大关系,对虾养殖水的无菌对照中的地衣芽孢杆菌生物量远远高于无机培养液组恰恰证明了该结论。

通径分析 (Path Analysis) 是研究变量间相互关系、自变量对因变量作用方式、程度的多元统计分析技术。地衣芽孢杆菌和其他微藻对颤藻直接和间接的

作用可以用通径分析法进行分析。表1中微绿球藻生物量( $X_a$ )和地衣芽孢杆菌生物量( $X_b$ )对颤藻生物量( $Y_c$ )的直接作用为正,而表3中为负值,这是因为微绿球藻+颤藻+地衣芽孢杆菌混合培养组的总生物量较小,几种微生物间相互促进,而微绿球藻+隐藻+颤藻+地衣芽孢杆菌混合培养组的总生物量较大,微生物之间形成了竞争。所以在微藻与微藻之间、微藻与细菌之间不存在胞外产物相互作用的情况下,要想使某种微藻受到抑制,就要使总生物量达到一定的密度,这样才使它们因竞争而产生抑制作用,而在密度较低时产生的作用往往是相互促进。从表3可以看出,微绿球藻和地衣芽孢杆菌对颤藻的作用较大,从它们对颤藻的总作用来看,微绿球藻促进颤藻的生长,而地衣芽孢杆菌抑制颤藻。但从决策系数 $R^2(i)$ 来看,地衣芽孢杆菌为主要的决定因素,而微绿球藻为主要的限制因素,这说明这两种微生物对颤藻所产生的主要作用都是通过其他生物来产生作用的。李卓佳等(2002)<sup>⑦</sup>研究斑节对虾养殖池塘藻-菌关系,发现在池塘中施用一定量的地衣芽孢杆菌对蓝藻具有抑制作用。从本实验的分析结果看,地衣芽孢杆菌不是直接抑制蓝藻,而是其他微藻在地衣芽孢杆菌的作用下对蓝藻产生抑制作用或者说是地衣芽孢杆菌间接抑制蓝藻。在水产养殖过程中在养殖水体定期补充地衣芽孢杆菌,使其他有益微藻在地衣芽孢杆菌的协同作用下取得竞争优势,可能会成为抑制颤藻爆发的有效途径。

#### 参考文献:

- [1] Grossart H P, Czub G, Simon M. Algae-bacteria interactions and their effects on aggregation and organic matter flux in the sea[J]. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(6):1074-1084.
- [2] Grossart H P, Simon M. Interactions of planktonic algae and bacteria: effects on algal growth and organic matter dynamics[J]. *Aquat Microb Ecol*, 2007, 16(47):163-176.
- [3] Susoko, Sakata T. Effects of co-existence bacteria on the growth of *Chattonella marina* in nonaxenic culture[J]. *Fish Sci*, 1996, 62:210-214.
- [4] 苏秀榕,秦松,骆其君,等.浙江沿海藻类共生细菌的生理生化特性研究[J].生态环境,2005,14(2):239-241.
- SU Xiu-rong, QIN Song, LUO Qi-jun, et al. Physiology and biochemistry characteristic of symbiosis bacteria on algae of Zhejiang coast[J]. *Ecology and Environment*, 2005, 14(2):239-241.
- [5] Van den Meersche K. Carbon-nitrogen coupling and algal-bacterial interactions during an experimental bloom: modeling a <sup>13</sup>C tracer experiment[J]. *Limnol Oceanogr*, 2004, 49(3):862-878.
- [6] Croft M T, Lawrence A D, Raux-Deery E, et al. Algae acquire vitamin B<sub>12</sub> through a symbiotic relationship with bacteria[J]. *Nature*, 2005, 438(11):90-93.
- [7] 李卓佳,郭志勋,冯娟,等.应用芽孢杆菌调控虾池微生态的初步研究[J].海洋科学,2006,30(11):28-31.  
LI Zhuo-jia, GUO Zhi-xun, FENG Juan, et al. Primary study on mediating micro-ecological environment with *Bacillus* sp. in shrimp pond[J]. *Marine Sciences*, 2006, 30(11):28-31.
- [8] 张汉华,李卓佳,郭志勋,等.有益微生物对海水养虾池浮游生物生态特征的影响研究[J].南方水产,2005,1(2):7-14.  
ZHANG Han-hua, LI Zhuo-jia, GUO Zhi-xun, et al. Study on the influences of probiotics on ecological characteristics of plankton in the mariculture ponds[J]. *South China Fisheries Science*, 2005, 1(2):7-14.
- [9] Thimmalapura N, Devaraja, Fatimah M Yusoff, Mohamed Shariff. Changes in bacterial populations and shrimp production in ponds treated with commercial microbial products[J]. *Aquac*, 2002, 206(3-4):245-256.
- [10] Shariff M, Yusoff F M, Devaraja T N, et al. The effectiveness of a commercial microbial product in poorly prepared tiger shrimp, *Penaeus monodon* (*Fabricius*), ponds[J]. *Aquac Res*, 2001, 32(3):181-187.
- [11] Lathrop R C. Evaluation of whole-lake nitrogen fertilization for controlling blue-green algal blooms in a Hypereutrophic Lake[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1988, 45(12):2061-2075.
- [12] 范秀容,李广斌,沈萍.微生物学实验[M].(第二版).北京:高等教育出版社,1989:110-111  
FAN Xiu-rong, LI Guang-bin, SHEN Ping. Microbiology experiment[M] (the second edition). Beijing: Higher Education Press, 1989:110-111.
- [13] 何曙阳,饶行.中国对虾育苗池细菌种群数量变化研究[J].中国水产科学,1999,6(1):125-127.  
HE Shu-yang, RAO Xing. The changes of population and quantity of bacteria in shrimp tank[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 1999, 6(1):125-127.
- [14] 郑莲,黄翔鸽,刘楚吾,等.两种微藻对凡纳滨对虾养殖环境中细菌数量变化的影响[J].台湾海峡,2005,24(2):178-182.  
ZHENGLian, HUANG Xiang-hu, LIU Chu-wu, et al. Influence of two microalgae on bacteria community structure in cultural environment of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Ocean Ography in Taiwan Strait*, 2005, 24(2):178-182.