

浮游植物和异养水生细菌的代谢偶联 ——了解湖沼物质循环的关键

Jürgen Overbeck*

(马普湖沼学研究所, 普伦, 德意志联邦共和国)

本文的题目似乎是很专的, 并且与我们内陆水域的湖沼学概论距离相当远。然而, 湖沼的自养生产者, 尤其是浮游植物, 确与异养细菌的代谢密切地偶联着, 异养细菌反而要利用初级生产产生的有机物质。合成和分解, 这两个过程的规模是相等的, 在初级生产时结

合到生物量中的营养物质由细菌释放出来, 从而使再生产成为可能(图 1)。

自养和异养代谢之间虽有如此密切的关系, 但是, 只是在60年代才开始深入研究水生细菌及其在湖沼物质循环中的作用(表 1)。湖沼学的概念是 F. A. Forel 在他关于 Genier 湖的专著中提出的。大约从 1900 年起, 湖沼是根据不同的特征进行分类的。Thienemann 和 Naumann 的论文提出了富营养的、贫营养的和营养失调的(高产的、低产的和褐色水的)湖沼概念, 今天仍然适用。在 30 年代发展了一些为研究湖沼所必需的化学和生物学的方法。突破性的进展是引用了 ^{14}C 标记的重碳酸盐测定初级生产, 从而可以定量地确定湖泊的营养水平。表 2 列出湖沼生产率从低到最高的连续系统。溶解的有机物质是异养细菌活性的基础, 其含量随初级生产的提高而增加。

Kusnezov 于 1959 年出版了“微生物在湖沼物质循环中的作用”^[1]一书, 标志着研究战略上的转变: 异养微生物的代谢像自养的合成过程一样, 受到了同等的注意。随着 Wright 和 Hobbie^[2] 把酶动力学方法

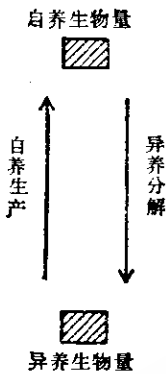


图 1 合成和分解

在湖沼里是浮游植物和异养细菌通过代谢生理互相偶联, 这种偶联是湖沼物质循环的基础

表 1 湖沼学研究发展史摘要

1892	Forel, F. A. 日内瓦湖, 湖沼学专著
1900 起	湖沼的分类 基本原理:
1901	Forel, F. A.: 内陆湖沼的热力学
1911	Birge, E. A. and C. Juday: 氧的分布模型
1913, 1915	Naumann, E.: 浮游植物种的多样性和群体发育, 沉积物的碳含量、氮
1915	Thienemann, A.: 氧的平衡、湖的形态学和沉积物的沉积作为湖沼分类的基础 概念: 富营养湖, 贫营养湖, 营养失调湖
1930 起	定量湖沼学
1931	Utermöhl, H.: 倒置显微镜
1932	Wereschagin, G. W., W. Ohle: 水化学
1952	Steemann-Nielsen, E.: 用 ^{14}C 测定初级生产
1959	Kusnezov, S. J.: 微生物在湖沼物质循环中的作用
1966	Wright, R. T. and J. E. Hobbie: 用 ^{14}C 标记的有机物测定异养潜能

* Prof. Dr. Jürgen Overbeck: Max-Planck-Institute of Limnology, Department of Microbial Ecology, August-Thienemann-Strasse 2, Postfach 165, D-2320 Plön, West Germany.

本文由王修垣同志译自该文德文稿。

引入到研究工作中,即可能在湖沼中就地定量研究细菌的活性。

表 2 营养程度不同的湖沼的初级生产和溶解的有机碳^[11]

湖的类型	初级生产 (gC/m ² /d)	溶解的有机碳 (mgC/L)
低产湖	<1	0.5—3
中产至富产湖	1—4	5—10
超富产湖	4—6	10—15
腐植湖或卷叶森林湖	4—6	10—20
有污水的湖	不稳定	15—30
海水	1—4	0.1—5.0

马普湖沼学研究所设在普隆 (Pleč), 它的普通湖沼学研究室(现称为微生物生态学研究室)多年来致力于研究水域的微生物学问题。研究工作集中在普鲁斯湖(Pluss), 湖的四周为冰碛丘陵环绕, 丘陵上树木丛生, 形成了防风林(图 2)。湖的面积只有 14 公顷, 深度达 29 米, 平均深度为 9.4 米。直径约 400 米, 体积为 1.3 百万立方米。湖盆呈均等的漏斗状, 便于取得无机物、有机物和湖内存在的总生物量的定量资料。利用安装的测试系统可以连续地测得必需的参数, 如湖面上和湖内的辐射气候、温度、氧、沉积以及从进水区流入的营养物等^[16]。

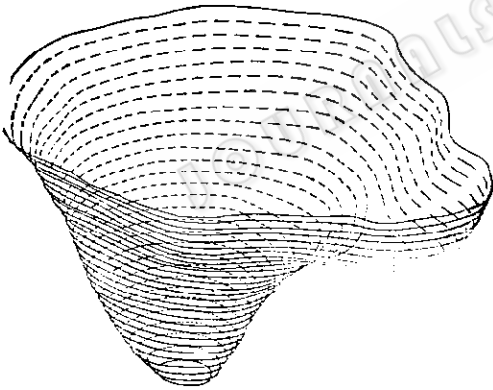


图 2 普鲁斯湖的等深线, 俯视角 60°

图 3 表示普鲁斯湖的能量平衡。0.1% 的辐射能量为浮游植物所固定, 从而该湖的年生产量为 25 吨碳。较多的总辐射能以热的形式储备, 为 8.5%。储备的能量作用于湖的结构, 使温暖的表水层(湖上层; Epilimnion)位于冷的深水层(湖下层; Hypolimnion)之上。这两层水体区分明显, 在夏季水体分层时强烈地抑制了垂直交换。所以在夏季, 由于浮游植物下沉, 湖的深处常常发生营养物的富集。在秋季变冷后, 等温的水体环流, 所有的物质也随之重新分配(图 4 和 5)。湖水分层也对湖内氧的分布影响很大。在湖下层分开后, 在湖的深处上升至湖上层时, 由于强烈的代谢过程, 氧被完全消耗了(图 6)。

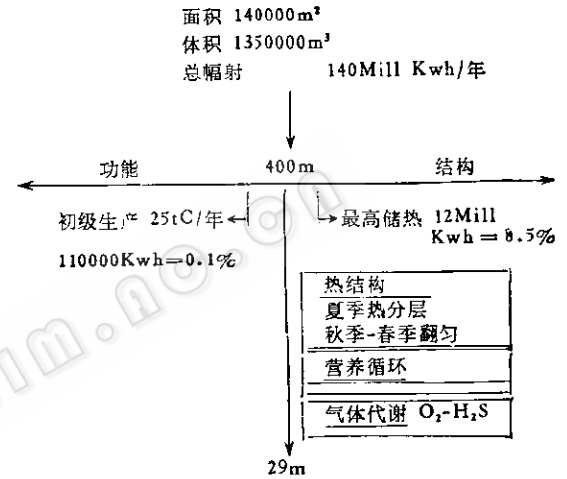


图 3 普鲁斯湖的能量平衡(资料由本所 Dr. H.-J. Kraembeck 提供)

普鲁斯湖内氧的平衡与碳的平衡有直接的联系(表 3): 当耗氧量高时, 在最上部 5 米的水体中, 约 80% 的初级产物已被分解。尤其是在湖上层和湖下层之间的界面上, 也就是在好气和厌氧水体的界面上可测试到很强烈的细菌代谢活性。在沉积物中发生着强烈的甲烷发酵。在这里, 细菌的甲烷氧化起着重要作用, 使湖下层中氧的消耗很快。

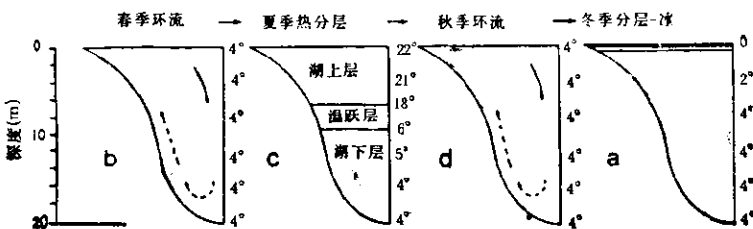


图 4 湖沼每年的环流和分层
该湖每年翻匀两次, 所以称为二次混合型^[16]

表3 Pluss 湖的碳平衡 (C t/年)

浮游植物的初级生产	25
最上层5米的转化量	20(=80%)
由浮游植物和浮游动物的下沉而形成 的沉积物中的碳	1.25
在沉积物中形成的甲烷量	6
在沉积物表面或水中氧化了的甲烷	5

表4 普鲁斯湖的初级生产(1981)

最高生产量 (gC/m ² /d)	2.1
平均生产量 (gC/m ² /d)	0.5
最上层5米水层的生产量占总生产量	97%
年生产量 (gC/m ² /年)	188
1981年生产量 (t,C)	26.4

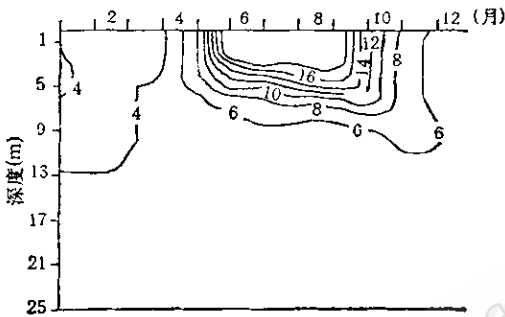


图5 普鲁斯湖的温度状况(1979)

时间: 1979年1月24日—12月11日; 深度: 0—25米; 等温线: 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18(°C)。4月表层水开始变热; 5月湖水已分层, 明显的温度梯度位于4—5米深处(温跃层); 11月分层破坏, 湖水温度4°C (参阅图4)

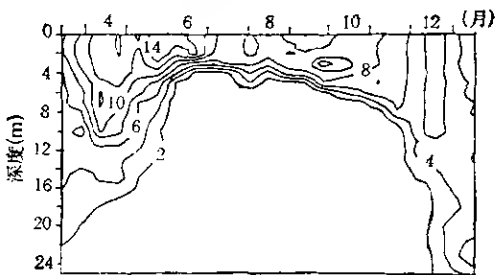


图6 普鲁斯湖含氧量的年变化(1977—1978)

从6月起, 湖的深处(湖下层)已无氧。氧含量梯度在4—5米深处同温跃层一起急剧下降(参阅图5)
深度: 0—25米; 含氧量: mg O₂/l; 时间: 1977年3.14—1978年1.16; 等氧线: 2-2-16(mg O₂/l)

普鲁斯湖与大多数东霍斯坦(Ostholstein)的湖沼相同, 是一个富营养湖(表4)。比较表2的资料可以看出, 它的日产量处在中产和高产湖的范围。这类湖沼通常有相当厚的浮游生物层, 产量很高: 97%初级生

产在表层5米的水体中测得。在5米以下, 实际上不再有光合作用可利用的光。

这些资料为了解藻类和细菌的代谢偶联及其在湖沼物质转化中的作用提供了条件。

在天然的、未经污水污染的富营养湖中, 细菌的数量为10⁴—10⁷个/ml。菌量可以在微孔滤膜(直径0.2 μm)上用吖啶橙或其它荧光染料染色后, 置荧光显微镜下直接计数。总菌量中只占极小百分数生长在通用的、多半是高浓度的营养琼脂上。这是一些广泛分布的一般腐生菌, 它们适应高的基质浓度, 在天然环境中, 当溶解的有机物突然暂时过剩, 例如在浮游植物的水华破坏时, 它们起着重要的作用。图7表示这两类基本上在所有天然环境(水生的和陆生的)中都能发现的细菌的分群, 尽管种的组成可能不同。根据维诺格拉斯斯基^[12]的意见, 在供给有机营养物质时占优势的腐生发酵菌是与本源的细菌相对而言的, 本源的细菌有一部分是微嗜碳的, 即适应很低的基质浓度; 有一部分也能利用空气中的有机污染物。

我们在以前的湖沼研究中已经指出, 浮游细菌的年周期是夏季数量最高、冬季最低, 藻类和细菌的发育相平行^[12, 13]。初级生产的水平和菌数相当。同化的碳量和发酵的细菌数(腐生菌)吻合尤其良好(表5)。

从浮游植物和细菌的分布图也可以看出自养和异

表5 东 Holstein 4个湖的初级生产和细菌数/ml 1962—1964 年深1米处的平均值^[13]

湖名	mg C/m ³ /24h (据 Ohle*)	腐生菌	总菌数(百万)
Pluss	57	1000	1.1
Ploen	35	650	1.0
Schluein	17	350	0.5
Schoeh	16	300	0.5
彼此之间的关系			
Pluss	1	1	1
Ploen	0.61	0.65	0.90
Schluein	0.30	0.35	0.45
Schoeh	0.28	0.30	0.45

* Ohle, W. (1962): Kieler Meeresforsch. 18: 107—120.

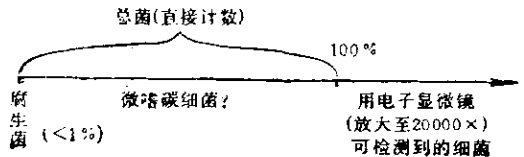


图7 湖沼细菌的分群

用显微镜直接测到的总菌量含有很小一部分腐生(发酵)菌(在普通培养基上生长), 大部分本源细菌适应微量的基质, 因此可以广义地看成是微嗜碳的, 若如此, 只能用特殊培养基培养

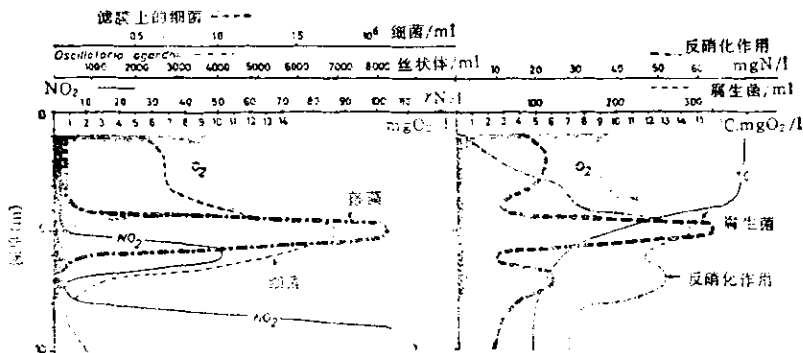


图8 普鲁斯湖的纵剖面(上部10米,1966.8.30)^[44]

养部分之间的关系。图8表示1966年8月30日普鲁斯湖的垂直分布。为了清晰起见只绘出普鲁斯湖最上面的10米。立即可以看出浮游植物和细菌吻合,因为大量细菌出现在浮游植物最多的同一水深。图的左边标出在滤膜上直接数出的细菌数量(总菌数,参阅图7),图的右边是在营养琼脂上生长的发酵菌(腐生菌),后者大约只占总菌数的0.02%。

从温度的急剧变化可以看出,温跃层(Sprungschicht)位于5米深处。在此深度,氧已几乎完全消耗(参阅图6)。值得注意的是,在调查时发现蓝藻(颤藻属*Oscillatoria*)下沉到温跃层以下,从而位于湖的厌气部分。原因是表层水缺乏磷酸盐。在温跃层中尚有足够的可供光合作用利用的光。此外,在温跃层下的湖下层,存在着磷酸盐可供利用。因此,在此比较窄的温跃层区有可能有一生物大量发育层。

当异养生物与自养的蓝藻偶联时,伴随颤藻属的好气细菌必须利用结合态氧以代替不再有供给的游离

态氧。此时,硝酸盐还原成亚硝酸盐(硝酸盐还原)。因此,亚硝酸盐最高浓度与藻类和细菌的最大数量同时出现。细菌对硝酸盐呼吸的活性测定(反硝化作用,图8右侧)表明,其最高值位于5—7米的范围内。在此范围我们发现亚硝酸盐含量最高,颤藻属和细菌的含量也最高。

细菌在食物链中的位置见图9。由浮游植物②生产的以及从湖的供水区带进的(外源的)溶解有机物

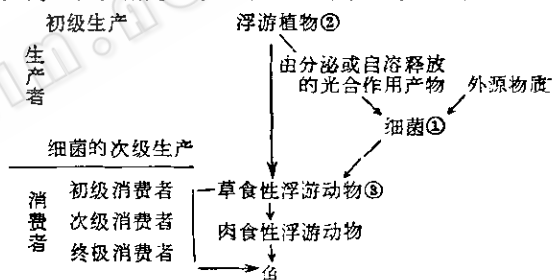


图9 食物链^[45]

表6 藻类的胞外产物和细菌生长的关系

处 理	培养时间(d)				
	0	1	2	3	4
胞外蛋白-N +NH ₄ -N, mg/l					
1 单一纯培养	0.4	1.9	3.2	5.2	7.4
2 单一纯培养+细菌	0.08	1.2	1.7	2.2	3.1
3 1,2 两者之差	0.3	0.7	1.5	3.0	4.3
4 细菌总 N, mg/l	0.3	0.6	2.1	2.9	4.4
5 细菌总 N+胞外 N, mg/l	0.4	1.8	3.8	5.1	7.5
6 细菌细胞数×10 ¹⁰ /l	1.0	1.9	7.4	10.2	15.5
7 藻类细胞数×10 ¹⁰ /l					
单一纯培养	0.8	1.9	6.8	13.0	14.6
单一纯培养+细菌	0.8	2.1	7.6	16.8	19.9

(三次试验12瓶培养物的平均值^[61])

在它的产地直接转化成细菌生物量①并进入食物链③中。现在该讨论细菌的次级生产。次级生产过程的意义在于,普鲁斯湖50%的初级生产(以碳计)是经细菌的代谢运转的。也大致有这么多的浮游植物被浮游动物吃掉。自养生产和外源的物质使细菌的次级生产有可能与初级生产规模相当。从这些数字看来,细菌的作用有着全新的含意:它们不仅是破坏者,参与进入湖内溶解性或颗粒状态的有机物的分解;而且就生物生产而言,它们在湖内生物量的生产也与自养生产同等重要。

兹以两项实验研究为例说明藻类和细菌的关系。

表6列出来得基颤藻(*Oscillatoria redekei*)和伴生菌之间氮化物交换的一系列测定结果。第1行是4天试验期中无菌的藻类培养物(单一一种纯培养)中溶解性氮化物的含量。加入细菌后(第2行),大部分胞外的氮化物被细菌同化:溶解性化合物的数量减少。从第4行可以看出,单独测定的细菌含氮量与单一一种纯培养和含细菌的培养物之间溶解性氮化物之差良好吻合;溶解的可利用的含氮化合物被细菌结合转化成菌体的一部分。因而第1行和第5行的数值也吻合。1—单一一种纯培养,5=2(加入细菌的溶解氮)+4(颗粒氮)。

值得注意的是,当细菌细胞存在时藻类细胞数显然多些。经常重复的观察证明了藻类和细菌之间互惠的代谢关系。添加自无菌的来德基颤藻培养物中的藻类分泌物(分泌物的制备参阅[4])明显抑制藻类的生长(图10)。有机物是在25小时后接到培养管中的。在45小时后差别(在436nm测定消光)还不很明显,在添加溶解的有机碳后,*Oscillatoria*-丝状体开始破碎。未加入溶解性有机碳的培养物生长正常,对数生长期并未中止,而加入溶解性有机碳的培养物中碎屑和自溶产物增加。

图11表示用 ^{14}C 标记后直接测定来德基颤藻分泌溶解有机物的速度并接着测定 ^{14}C 标记的溶解有机物被细菌吸收的速度的试验程序。试验的结果是明确的:藻类的分泌与细菌的同化同时存在,细菌的最大同化速率很大,为藻类分泌速率的100倍。藻类分泌的有机物的数量也限制着细菌生长。另一方面,细菌群体对基质的供应反应很快。并且能同化更多的有机

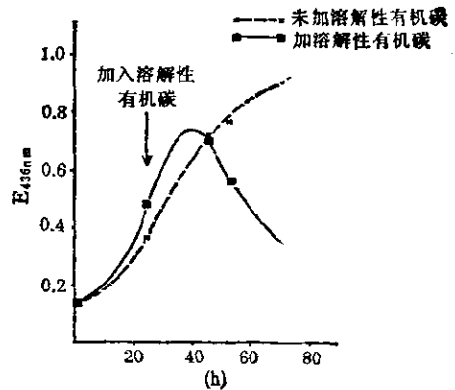


图10 在无菌的来德基颤藻培养物中加入该藻的分泌物,藻的生长受到抑制^[4]

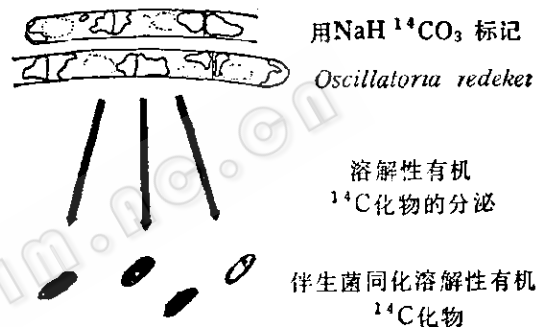


图11 测定藻类和细菌之间物质交换的试验程序^[4]

物,如同化藻类水华破坏时形成的有机物。在湖中存在的溶解性碳化合物的量只是剩余浓度。在湖中也像在这次试验中一样(表7),碳化合物的量约为10—20mgC/l。

来德基颤藻对有机物的释放与藻类的生长密切结合,80—90%有机物是含氮的。蛋白质的含量往往随藻类的生理状态和分子段的情况而波动在40%和80%之间。湖内溶解性有机物可用凝胶层析按分子大小分成4段(图12);分子量约1500,600,450,100。在层析柱下限萃取的物质可看作是单分子的物质。从图12可以看出,各分子段均发生了伴生菌对藻类(*Osci-*

表7 来德基颤藻分泌溶解性有机物的速度与细菌最高同化速度(V_{max})的比较

试 验	试验期 (h)	藻类细胞 ($\times 10^7$ /ml)	分泌速度 (mgC/l/h)	细菌数 ($\times 10^7$ /ml)	$V_{max}\phi$ (mgC/l/h)
<i>Osc. redekei</i> + 乳杆菌属 (<i>Lactobacillus</i>)	18.5	2.80	0.205	8.52	19.46
	44	7.35	0.45	15.5	35.40
	67.5	10.05	0.825	20.0	45.68
<i>Osc. redekei</i> + 黄杆菌属 (<i>Flavobacterium</i>)	25	2.83	0.30	12.69	40.79
	45	12.0	0.675	21.0	67.50
	73	17.75	1.25	30.32	97.46

illatoria) 物质的分解。72 小时后观察, 黄杆菌 (*Flavobacterium*) 不再分解它们。加入从普鲁斯湖分离出的其它在代谢生理上有专一性的细菌, 分解得以继续进行。细菌的演替以这种方式逐步地分解自养生产者形成的溶解性有机物。

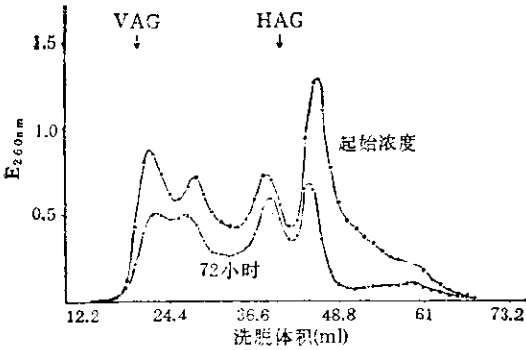


图 12 来得基颈藻的溶解性有机碳化物被其伴生菌 *Lactobacillus* sp. 所分解凝胶色谱, 交联葡聚糖凝胶, 在 1500A. E. 单位时的前排阻限 (VAG)。在排阻限后 (HAG) 洗脱的物质可称之为单分子物质^[4]

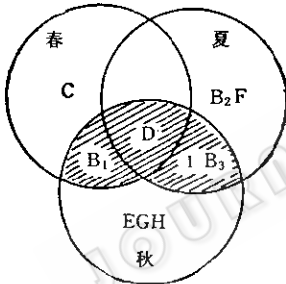


图 13 普鲁斯湖细菌群体的年变化字母表示对不同季节从普鲁斯湖分离的 124 株细菌进行聚类分析整理出的相似性矩阵^[5]

偶联过程是如此专一, 致使随着浮游植物的演替, 细菌群体也发生变化 (图 13)。经计算机检索出的族群中可分成春季群体、夏季群体和秋季群体。我们对于这个过程的了解还很少。我们知道, 细菌和藻类之间存在专一的偶联, 但并不了解它们专一的程度。

总之可以确定, 生态系是长期进化的产物, 在进化过程中生态系不同成员之间形成密切的代谢生理偶联。微生物-浮游藻类的这种偶联可以首先用描述的方法, 然后用生物化学的方法加以研究。不了解微生物——细菌的活性就不能认识湖泊生态系的物质循环。

我们再将上述资料加以较广义的概括可以看出, 生态系可以按代谢(群落代谢)进行分类。在成熟的或“演替顶极”生态系中存在着生产 (P) 和呼吸 (R) 间

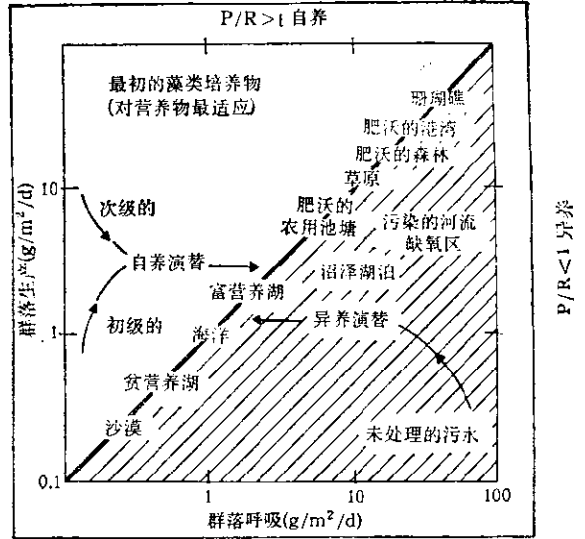


图 14 群落类型^[6](根据群落代谢, 即自养和异养活性的关系划分的)

的平衡, 因而 P/R 的关系可能是生态系成熟状况的极好标志。图 14 用自养和异养演替间的关系说明各种水域和陆地的生态系。在对角线的左边, 总生产量 (P) 超过群落呼吸 (R)。与此相反, 在图的右边, P/R 小于 1。这些群落同化有机物 (尤其是未处理的污水) 或者靠储备的产物生活。沿对角线列出的群落消耗了它们每年的平均生产量并处在代谢演替顶极。属于此的还有贫营养 (低产的) 湖和富营养 (高产的) 湖。普鲁斯湖的产量位于图 14 富营养湖的范围, 约为 $\lg C/m^2/d$ 。

演替顶极研究也可以通过研究水生细菌的代谢活性来进行, 水生细菌不仅分解由自养代谢生产的物质 (分解代谢), 而且还同时生产生物量 (合成代谢)。前已指出, 自养的产物有 50% 直接进入细菌代谢。把溶解性的有机碳转化成颗粒状态的有机碳是细菌对生态系功能的决定性贡献。群落呼吸的背景包括了组织得较好的层次, 空间的异质性, 以及较大的生物化学多样性。

目前, 我们研究工作的重点是发展在湖沼现场测定生物化学多样性的方法。

参 考 文 献

- 1 Birge E A and C Juday: The Inland Lakes of Wisconsin, The Dissolved Gases and Their Biological Significance, Bull. Wisc. Geol. Nat. Hist. Surv. 22, 1911.
- 2 Forel F A: Le Leman: Monographie Limnologique, T. I. Lausanne, F. Rouge, 1892.
- 3 Forel F A: Handbuch der Seenkunde: Allgemeine

- Limnologie, J. Engelhorn, Stuttgart, 1901.
- 4 Herbst V: *Arch. Hydrobiol. /Suppl.*, 69: 525—594, 1984.
 - 5 Kusnezow S J: Die Rolle der Mikroorganismen im Stoffkreislauf der Seen. -VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, pp. 301, 1959.
 - 6 Meffert, M E and J. Overbeck: *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 21: 1432—1435, 1981.
 - 7 Naumann E: Undersodningar öfver Futoplankton och under den Pelagiska Regionen Försiggaende Gytte, och Dybildningar Inom Vissa Syd, Och Melladssvenska Urbergsvatten, Kungl. Svenska Vet. Akad. Handl., 56: 5, 1917.
 - 8 Naumann E: Einige Grundlinien der Regionalen Limnologie, Lunds Universitets Arsskrift N. F. Avd., 2, 17(8), 1921.
 - 9 Odum E P: *Grundlagen der Ökologie* in 2 Bd. Übers. u. Bearbeitet von Lurgen Overbeck und Ena Overbeck, Thieme Veil. Stuttgart New York, 2 Unveränd, Aufl pp. 836, 1983.
 - 10 Ohle W: *Arch. Hydrobiol.*, 26: 386—464, 584—658, 1934.
 - 11 Ohle W: *Gewässerschutz Wasser Abwasser*, 8: 1—56, 1972.
 - 12 Overbeck J and H D Babenzien: *Z. Allg. Mikrobiol.*, 4: 59—76, 1964.
 - 13 Overbeck J: *Naturwissenschaften*, 51: 145, 1965.
 - 14 Overbeck J: *Mitt. MPG.*, 3: 165—182, 1968.
 - 15 Overbeck J: *Umschau*, 72: 358, 1972.
 - 16 Overbeck J: *Forum Mikrobiologie*, 5: 292—303, 1982.
 - 17 Schwoerbel J: Einführung in die Limnologie 5. Aufl., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. UTB, pp. 31, 233, 1984..
 - 18 Steemann-Nielsen E: *J. Cons. Int. Explorat. Mer.*, 18: 117—140, 1952.
 - 19 Thienemann A: Physikalische und Chemische Untersuchungen in den Maaren der Eifel., *Verh. Nat. Hist. Ver. Preub. Rheinl. Westf.*, 70: 249—303, 1913.
 - 20 Thienemann A: Physikalische und Chemische Untersuchungen in den Maaren der Eifel., *Verh. Nat. Hist. Ver. Preub. Rheinl. Westf.*, 71: 273—389, 1915.
 - 21 Utermöhl H: *Arch. Hydrobiol.*, 94: 38—52, 1951.
 - 22 Winogradski S: *Microbiologie du Sol*. Massou, Paris. pp. 851, 1949.
 - 23 Witzel K P, Overbeck J and Moaledj K: *Arch. Hydrobiol.*, 94: 38—52, 1981.
 - 24 Werescagin G J: *Arch. Hydrobiol.*, 23: 1—64, 167—230, 1932.
 - 25 Wright R T and Hobbie J E: *Ecology*, 47: 447—464, 1966.
 - 26 Schwoerbel J: Einführung in die Limnologie, 5 Aufl., Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, UTB 31, 233p. 1984.