

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20200514002

尹思成, 马逸驰, 王先云, 等. 3种淡水微藻相互间化感作用的实验研究[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(6): 223-233

Yin S C, Ma Y C, Wang X Y, et al. Study on the allelopathy of three kinds of freshwater microalgae [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(6): 223-233 (in Chinese)

3种淡水微藻相互间化感作用的实验研究

尹思成¹, 马逸驰¹, 王先云², 尚光霞¹, 王丽卿^{1,3}, 张玮^{1,3,4,*}

1. 上海海洋大学农业部鱼类营养与环境生态研究中心, 上海 201306

2. 上海城市水资源开发利用国家工程中心有限公司, 上海 200082

3. 上海海洋大学水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306

4. 上海海洋大学水产动物遗传育种中心上海市协同创新中心, 上海 201306

收稿日期: 2020-05-14

录用日期: 2020-07-01

摘要: 水体富营养化和气候变暖加剧了入侵蓝藻的全球性扩张; 化感作用在此类蓝藻的扩张中可能起到重要的作用, 但对不同物种之间的化感竞争关系, 仍研究不足。针对近年来上海地区水体出现的金胞藻水华现象, 以卵胞金胞藻和2种土著浮游植物(铜绿微囊藻、四尾栅藻)为研究对象, 通过滤液培养方式, 观测藻类生物量、叶绿素 *a* 含量和光合作用荧光活力等指标的变化, 探究卵胞金胞藻与2种微藻种间的化感竞争作用。结果表明, 在室内 BG11 培养条件下, 铜绿微囊藻滤液仅在实验前 4 d 对卵胞金胞藻的生长有抑制作用, 其潜在最大光合效率(F_v/F_m)和实际光合效率(Yield)先下降后上升, 实验结束时与对照组相比无明显差异($P>0.05$); 卵胞金胞藻滤液随时间延长对铜绿微囊藻的抑制作用逐渐增强, 4 d 后比生长率和叶绿素 *a* 含量显著低于对照组($P<0.01$), 对其光合活性影响不显著。四尾栅藻滤液显著抑制卵胞金胞藻的生长, 2 d 后生物量和叶绿素 *a* 含量显著低于对照组($P<0.01$), 但卵胞金胞藻的光合活性无明显变化; 卵胞金胞藻滤液对四尾栅藻的生长和潜在最大光合效率、实际光合效率和最大电子传递速率等无显著影响($P>0.05$)。金胞藻与微囊藻和栅藻之间不同的化感响应, 表明同一水体中的蓝藻可能更易成为金胞藻的化感抑制目标; 同时, 化感效应结果与不同物种的自身特性和水体营养水平有关。实验结果进一步探究了卵胞金胞藻与不同浮游植物之间的竞争关系, 为进一步了解卵胞金胞藻的扩散和暴发机制积累了基础数据, 可为我国新型蓝藻水华的防治提供理论参考。

关键词: 卵胞金胞藻; 水华蓝藻; 化感作用; 光合活性

文章编号: 1673-5897(2020)6-223-11

中图分类号: X171.5

文献标识码: A

Study on the Allelopathy of Three Kinds of Freshwater Microalgae

Yin Sicheng¹, Ma Yichi¹, Wang Xianyun², Shang Guangxia¹, Wang Liqing^{1,3}, Zhang Wei^{1,3,4,*}

1. Centre for Research on Environmental Ecology and Fish Nutrition of the Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

2. Shanghai National Engineering Research Centre of Urban Water Resources Co. Ltd., Shanghai 200082, China

3. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

4. Shanghai Collaborative Innovation for Aquatic Animal Genetics and Breeding, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Received 14 May 2020

accepted 1 July 2020

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目(41901119); 上海市科学技术委员会 2019 年度“科技创新行动计划”社会发展领域项目(19DZ1204504)

第一作者: 尹思成(1997—), 男, 硕士研究生, 研究方向为藻类生态学, E-mail: aquayinsc@163.com

*** 通讯作者 (Corresponding author),** E-mail: weizhang@shou.edu.cn

Abstract: Eutrophication and climate warming trigger the global expansion of invasive cyanobacteria. Allelopathy may be played a critical role in the expansion processes of the cyanobacteria. However, there is still insufficient research on the allelopathy between different species. Given the *Chrysosporum* bloom has been observed in Shanghai, we study the allelopathic effects among the invasive cyanobacterium *Chrysosporum ovalisporum* and two local phytoplankton taxa (*Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus quadricauda*) by measuring the dynamics of algal biomass, chlorophyll-*a* concentration, and chlorophyll fluorescence parameters. The results showed that under BG11 culture conditions, the *M. aeruginosa* filtrate only had an inhibitory effect on the growth of *C. ovalisporum* during the initial 4 days, and its PS II maximum photosynthetic efficiency (F_v/F_m) and PS II actual photosynthetic efficiency (Yield) decreased firstly and then increased, there was no significant difference observed compared with the control at the end of the experiment ($P>0.05$); *C. ovalisporum* filtrate culture showed a significant inhibitory effect on the specific growth rate and the chlorophyll-*a* concentration of *M. aeruginosa* ($P<0.01$) after 4 d treatment, but there was no significant effect on its photosynthetic activity. *S. quadricauda* filtrate significantly inhibited the growth of *C. ovalisporum*. After 2 days' incubation, the biomass and chlorophyll-*a* concentration of *C. ovalisporum* were significantly lower than that of the control group ($P<0.01$), but the photosynthetic activity of *C. ovalisporum* did not change significantly. The *C. ovalisporum* filtrate had no significant effect on the growth, F_v/F_m , Yield, and maximum electron transport rate (ETR_{max}) of *S. quadricauda* ($P>0.05$). The different allelopathy responses of *Chrysosporum* to *Microcystis* and *Scenedesmus*, suggest that cyanobacteria in the same water body is more likely to be the allelopathic suppression targets of *Chrysosporum*. At the same time, it also showed that the results of allelopathy were affected by their biological characteristics and the nutritional level in the water body. The results of our study further explored the competitive relationship among *C. ovalisporum* and different local phytoplankton species, which added basic data for understanding of the mechanism of the global diffusion of *C. ovalisporum*, and could be used for controlling newly recorded cyanobacterial bloom in China.

Keywords: *Chrysosporum ovalisporum*; cyanobacteria; allelopathy; photosynthetic activity

种间竞争是决定物种进化模式的重要因素,也是影响生物群落结构重组的主要因素;通常可分为利用性竞争和干扰性竞争两大类^[1]。利用性竞争为生物竞争利用有限的环境资源,而环境资源的下降会对所有生物的生存产生影响,比如:在水生态系统中,满江红等漂浮植物通过遮阴效果,影响沉水植物的生长,从而更容易占据优势地位^[2];大型海藻可以通过竞争营养盐对浮游藻类产生营养胁迫,从而抑制藻类生长^[3]。干扰性竞争是物种通过生物行为对其他物种产生影响,其形式机理多种多样^[1]。化感作用是一种常见的干扰性竞争,其形式是生物通过向周围环境中释放一些化学物质,从而对自身和其他生物的生长代谢产生影响^[4-6],比如:大型沉水植物穗花狐尾藻植株中的酚酸类和脂肪酸类化合物,能够显著抑制铜绿微囊藻等蓝藻的生长^[7];沉水植物金鱼藻合成和释放的一些生物碱则能够对小球藻和鱼腥藻等浮游植物产生生长抑制^[8]。

浮游植物在水体中广泛存在,它们不但受水生和陆生高等植物产生的化感物质的影响,同时不同

藻类之间也普遍存在化感竞争^[9]。各国研究人员使用滤液培养法对藻类种间的化感作用和化感物质成分开展了不少研究^[10],例如:Carey 和 Karin^[11]研究发现,群体性丝状固氮蓝藻胶刺藻的滤液能够显著抑制鱼腥藻、微囊藻和束丝藻等的生长;Irfanullah 和 Moss^[12]发现水绵培养滤液会影响栅藻和微芒藻等的生长速率;另有研究表明,浮游蓝藻的化感作用能增加其在水环境中的竞争能力^[13],是蓝藻水华产生和维持的主要因素之一^[14]。此外,最近有研究表明,化感竞争作用可能在一些水华蓝藻的全球性入侵和扩张中起到了重要的作用^[15]。

卵孢金孢藻(*Chrysosporum ovalisporum* (Forti) Zapomelová et al.)原名卵孢束丝藻(*Aphanizomenon ovalisporum* Forti),是丝状固氮蓝藻,原分布于土耳其^[16]、以色列^[17]和澳大利亚^[18]的水库和湖泊中,并经常导致水华暴发。该藻能够产生拟柱孢藻毒素(cylindrospermopsin, CYN),可对水生生物和水体生态产生较为严重的负面影响^[17]。近年来,该藻呈现向多地区入侵的现象,在我国上海地区也出现了

卵孢金孢藻的水华^[19]。由于我国水体中暴发的蓝藻水华大多以微囊藻类群为主^[20],微囊藻水华几乎一度成为我国蓝藻水华的代名词,而对卵孢金孢藻这类新型水华蓝藻的研究,总体偏少。Bar-Yosef等^[21]通过对欧洲水域分离的卵孢金孢藻藻株的研究发现,它们能够通过产生的 CYN 刺激其他浮游植物产生胞外碱性磷酸酶(APA)以增加水体中可利用的磷酸盐含量,从而自己“渔翁得利”。近期,Zhang等^[22]研究发现,高温时节,卵孢金孢藻能抑制同一水体中片状微囊藻的光合作用和生长,干扰后者的生理代谢,从而在竞争中取胜。目前,虽然对该藻生理生态学已经开展了一些研究,但对于化感作用在其分布区域扩张和种间竞争中所起的作用方面,相关研究仍鲜有报道。

本研究以卵孢金孢藻和2种常见浮游植物铜绿微囊藻、四尾栅藻为实验对象,通过滤液培养方式,探究卵孢金孢藻和2种微藻间的化感作用。以期为进一步了解卵孢金孢藻与不同浮游植物物种的化感竞争,阐明其扩散与暴发机制,并为我国新型水华蓝藻的防控提供理论基础。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 藻种的培养

实验所用卵孢金孢藻(CFWA01007)和铜绿微囊藻(CFWA0100)为本实验室分别于上海滴水湖、太湖中分离获得;四尾栅藻(FACHB-1471)购自中国科学院淡水藻种库。根据 Sarchizian 和 Ardelean^[23]的方法,向 BG11 培养基中添加 10 mg·L⁻¹ 安美汀(Augmentin)和 20 mg·L⁻¹ 放线菌酮(actidione),以消除异养细菌和真核微生物的影响;采用 MGC-300H 型恒温光照培养箱培养,培养条件:(25±1)℃,光照强度 3 000 lx,光暗比(L:D) 12 h:12 h。4 000 r·min⁻¹ 离心 8 min 收集对数生长期的藻细胞,用于本实验接种。

1.2 实验设计

将卵孢金孢藻、铜绿微囊藻和四尾栅藻在 BG11 培养基中培养 15 d 后,通过离心(4 000 r·min⁻¹, 8 min)和抽滤(0.45 μm 混合纤维素脂膜,玻璃砂芯过滤器)获得不含藻细胞的滤液。利用过硫酸钾氧化-紫外分光光度法和过硫酸钾消解-钼锑抗分光光度法^[24]检测各滤液中的总氮(TN)和总磷(TP)浓度,添加一定量 NaNO₃ 溶液和 K₂HPO₄ 溶液使滤液中 TN、TP 浓度与 BG11 培养基中的水平一致。实验处理组设置:(1)Chr in Mic 为卵孢金孢藻培养于铜绿微囊藻滤液;(2)Chr in Sce 为卵孢金孢藻培养

于四尾栅藻滤液;(3)Mic in Chr 为铜绿微囊藻培养于卵孢金孢藻滤液;(4)Sce in Chr 为四尾栅藻培养于卵孢金孢藻滤液。培养体积为 200 mL,每组设 3 个平行,实验条件同培养条件。在 0、2、4、6、8 和 10 d 时分别取样测定微藻的生物量、比生长率、叶绿素 *a* 含量和叶绿素荧光参数等指标,另以 3 种微藻培养于 BG11 培养基作为对照,分析卵孢金孢藻和 2 种微藻间的化感作用。

1.3 指标测定

1.3.1 生物量及比生长率测定

用 BG11 培养基将藻液稀释成不同的浓度梯度,利用 UV-2800 型紫外分光光度计在 680 nm 波长下测量 OD 值,同时用 Sedgwick-Rafter 计数框,在 Olympus BX53 显微镜(400×)下进行计数,获得细胞密度,以 OD₆₈₀ 值为 *X* 轴、密度为 *Y* 轴作图,得出细胞密度与吸光度的标准曲线,实验中每 2 d 测定一次 OD₆₈₀ 值。

比生长率(μ)根据以下公式计算:

$$\mu = (\ln C_{t_2} - \ln C_{t_1}) / (t_2 - t_1),$$

式中: C_{t_2} 和 C_{t_1} 分别是卵孢金孢藻在时间 t_2 和 t_1 的细胞密度。根据体积法,以 1 mm³ 生物体积相当于 1 mg 细胞鲜重计算卵孢金孢藻的生物量。

1.3.2 叶绿素荧光参数的测定

每 2 d 测量一次光合荧光参数。取混匀藻液 3 mL 于测量杯中,暗处理 3 min 后使用 Phyto-PAM 型浮游植物荧光仪(德国 Walz 公司)测定卵孢金孢藻、铜绿微囊藻和四尾栅藻光合系统Ⅱ(PS Ⅱ)潜在最大光合效率(F_v/F_m)、实际光合效率(Yield)和叶绿素 *a* 浓度(Chl-*a*),实验第 0 天和第 10 天测量光合曲线初始斜率(α)、最大电子传递速率(ETR_{max})和半饱和光强(I_k)。

1.3.3 可溶性无机磷酸盐(dissolved inorganic phosphate, DIP)的测定

实验第 0 天和第 10 天测定培养基中 DIP 浓度,测定方法参照《水和废水监测分析方法(第四版)》^[24]。混匀藻液经 0.45 μm 混合纤维素脂膜过滤后,取 2 mL 滤液,定容至 25 mL,加入 0.5 mL 抗坏血酸溶液(体积分数为 10%)和 1 mL 钼酸盐溶液,放置 5 min 后,利用 UV-2800 型紫外分光光度计在 700 nm 波长下测量 OD 值,比对标准曲线得出 DIP 浓度。

1.4 数据分析

用单因素方差分析(ANOVA)对生物量、叶绿素 *a* 含量和叶绿素荧光参数等进行比较,分析前将数据进行方差齐性检验和正态性检验, $P < 0.05$ 被认为

具有显著性差异。使用 SPSS 23.0 进行统计分析,使用 Origin 2017 制作折线图和柱形图。

2 结果 (Results)

2.1 滤液培养对藻类生物量的影响

如图 1(a)所示,铜绿微囊藻滤液中卵孢金孢藻在实验前 4 d 生长受到显著抑制($P<0.01$),之后生长加速,实验结束时生物量达到(152.85 ± 15.83) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,与对照组无显著差异($P>0.05$)。如图 1(b)所示,

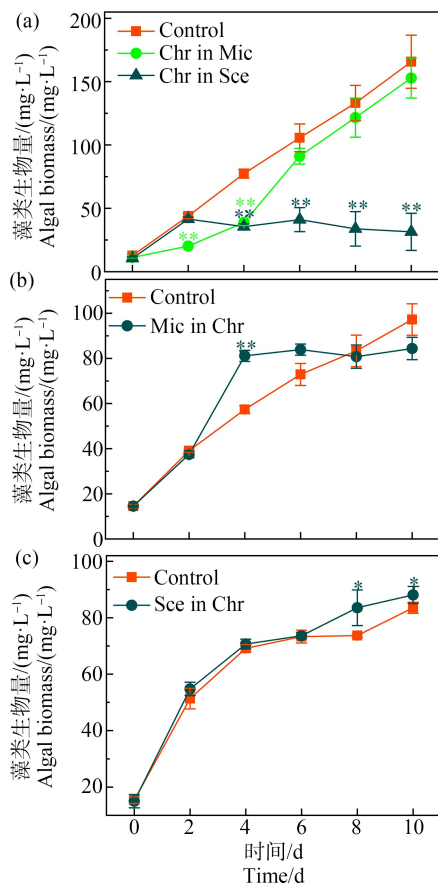


图1 滤液培养对卵孢金孢藻、铜绿微囊藻和四尾栅藻生物量的影响

注:*, **表示与对照组相比,双侧水平上具有显著性差异($P<0.05$ 、 $P<0.01$); Chr in Mic 为卵孢金孢藻培养于铜绿微囊藻滤液, Chr in Sce 为卵孢金孢藻培养于四尾栅藻滤液, Mic in Chr 为铜绿微囊藻培养于卵孢金孢藻滤液, Sce in Chr 为四尾栅藻培养于卵孢金孢藻滤液;下同。

Fig. 1 The biomass dynamics of *C. ovalisporum*, *M. aeruginosa* and *S. quadricauda* in the other algal filtrate

Note: *, ** indicate significant differences on both sides ($P<0.05$, $P<0.01$), compared with the control; Chr in Mic mean *C. ovalisporum* cultured in *M. aeruginosa* filtrate; Chr in Sce mean *C. ovalisporum* cultured in *S. quadricauda* filtrate; Mic in Chr mean *M. aeruginosa* cultured in *C. ovalisporum* filtrate; Sce in Chr mean *S. quadricauda* cultured in *C. ovalisporum* filtrate; the same below.

卵孢金孢藻滤液则在实验前期对铜绿微囊藻有一定促进作用,在第 4 天生物量达到对照组的 1.41 倍($P<0.01$),6 d 后至实验结束,生物量与对照组无显著差异($P>0.05$);如图 2(b)所示,4 d 后铜绿微囊藻的比生长率迅速下降,显著低于对照组($P<0.05$)。

如图 1(a)和图 2(a)所示,四尾栅藻滤液中卵孢金孢藻生物量在 2 d 后保持稳定,比生长率降低到 $-0.11 \sim -0.06$,在整个实验中后期显著低于对照组($P<0.01$),实验结束时其生物量仅占对照组的 18.95%。如图 1(c)和图 2(c)所示,卵孢金孢藻滤液对四尾栅藻的生物量和比生长率影响不显著($P>0.05$)。

2.2 滤液培养对藻类叶绿素 a 含量的影响

铜绿微囊藻滤液中卵孢金孢藻的叶绿素 a 含量在 0~6 d 升高速率低于对照组;6 d 后叶绿素 a 含量上升速率加快,实验结束时叶绿素 a 含量与对照组无明显差异($P>0.05$)。如图 3(b)所示,卵孢金孢藻滤液在实验初期对铜绿微囊藻的叶绿素 a 含量有一

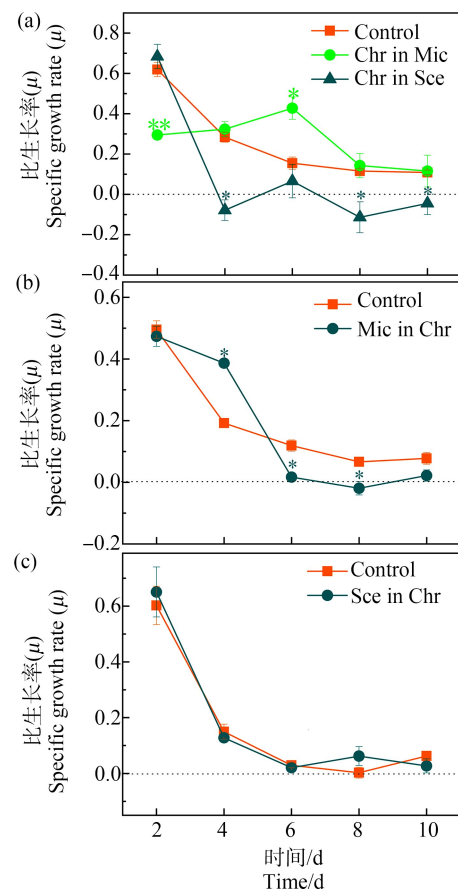


图2 滤液培养对卵孢金孢藻、铜绿微囊藻和四尾栅藻比生长率的影响

Fig. 2 The specific growth rate variations of *C. ovalisporum*, *M. aeruginosa* and *S. quadricauda* in the other algal filtrate

定的促进作用,第 4 天时显著高于对照组($P<0.05$);在 4~8 d 快速下降后趋于稳定,至培养结束时叶绿素 *a* 含量显著低于对照组($P<0.05$)。

如图 3(a)所示,四尾栅藻滤液中卵孢金孢藻叶绿素 *a* 含量在 2 d 后呈不断下降趋势,至培养结束时,叶绿素 *a* 含量为 $(16.1\pm3.78)\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,显著低于对照组卵孢金孢藻叶绿素 *a* 含量($P<0.01$)。如图 3(c)所示,卵孢金孢藻滤液中四尾栅藻叶绿素 *a* 含量在前 8 d 升高后降低,整个实验过程中与对照组无显著性差异($P>0.05$)。

2.3 滤液培养对藻类光合荧光参数的影响

如图 4(a)所示,实验前中期,2 种微藻滤液对卵孢金孢藻 PS II 的 F_v/F_m 均有一定抑制作用,在 2~8 d

均显著低于对照组($P<0.01$);实验结束时 F_v/F_m 上升,分别达到 0.25 ± 0.06 和 0.24 ± 0.06 ,与对照组 0.23 ± 0.04 无显著差异($P>0.05$)。如图 4(b)所示,卵孢金孢藻滤液培养的铜绿微囊藻 F_v/F_m 在实验前期升高,第 4 天达到 0.46 ± 0.01 ,显著高于对照组($P<0.05$);随后下降,至培养结束时与对照组无显著性差异($P>0.05$)。如图 4(c)所示,卵孢金孢藻滤液培养的四尾栅藻 F_v/F_m 在前 4 d 下降后趋于稳定,在整个实验过程中,与对照组无显著性差异($P>0.05$)。

如图 5(a)所示,卵孢金孢藻在 2 种浮游植物滤液中,Yield 均表现为先下降后上升的趋势。铜绿微囊藻滤液培养中的卵孢金孢藻 Yield 在第 6 天下降

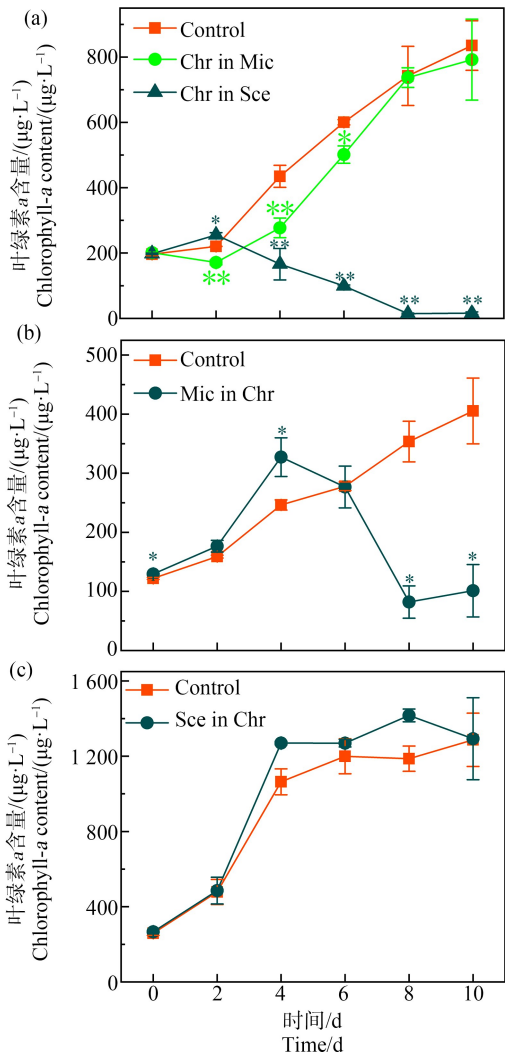


图 3 滤液培养对卵孢金孢藻、铜绿微囊藻、四尾栅藻叶绿素 *a*(Chl-*a*)含量的影响
Fig. 3 Effects of filtrate culture on chlorophyll-*a* (Chl-*a*) of *C. ovalisporum*, *M. aeruginosa* and *S. quadricauda*

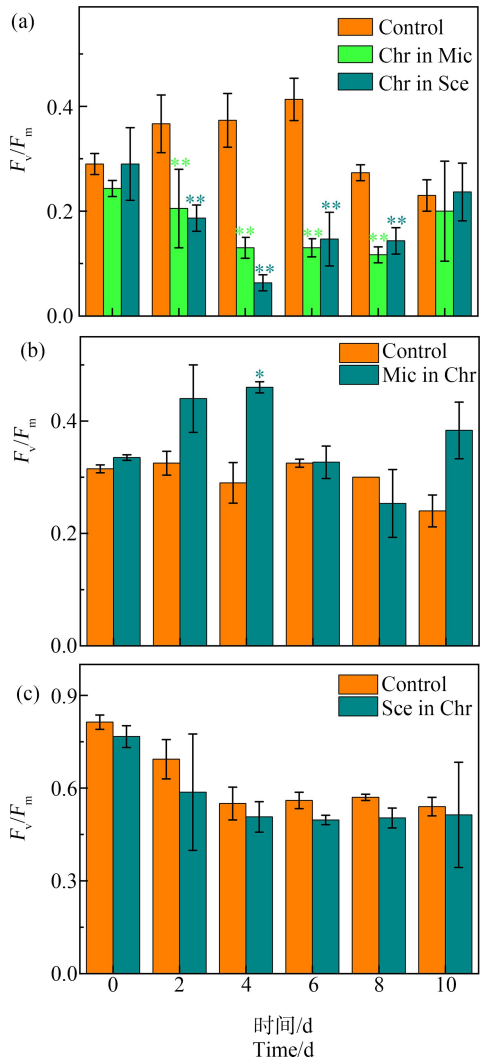


图 4 滤液培养对卵孢金孢藻、铜绿微囊藻和四尾栅藻潜在最大光合效率(F_v/F_m)的影响
Fig. 4 Effects of filtrate culture on the maximum photosynthetic efficiency (F_v/F_m) of *C. ovalisporum*, *M. aeruginosa* and *S. quadricauda*

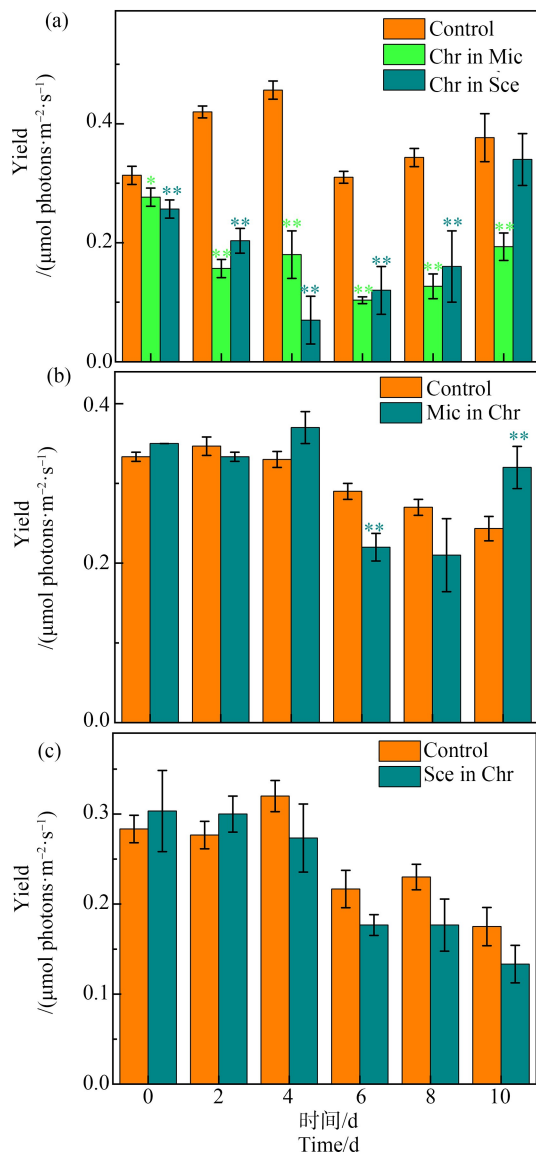


图 5 滤液培养对卵孢金孢藻、铜绿微囊藻和四尾栅藻实际光合效率 (Yield) 的影响

Fig. 5 Effects of filtrate culture on the PS II actual photosynthetic efficiency (Yield) of *C. ovalisporum*, *M. aeruginosa* and *S. quadricauda*

至最低,达到 $(0.10 \pm 0.01) \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$;后上升至 $(0.19 \pm 0.02) \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,在整个实验过程中均显著低于对照组($P < 0.05$)。四尾栅藻滤液培养卵孢金孢藻 Yield 在第 4 天下降至最低,而后上升;在 0 ~ 8 d 均显著低于对照组($P < 0.01$),实验结束时上升至 $(0.34 \pm 0.04) \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,与对照组无显著差异($P > 0.05$)。如图 5(b)所示,卵孢金孢藻滤液中铜绿微囊藻 Yield 在前 4 d 稳定,之后下降,第 6 天为 $(0.22 \pm 0.02) \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,显著低于对照组($0.29 \pm 0.01) \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ($P <$

0.01);8 d 后 Yield 回升,实验结束时达到 $(0.32 \pm 0.03) \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,显著高于对照组($P < 0.01$)。如图 5(c)所示,实验初始时卵孢金孢藻滤液和对照组中四尾栅藻 Yield 保持稳定;4 d 后卵孢金孢藻滤液中四尾栅藻 Yield 不断降低,在整个实验过程中与对照组无明显差异($P > 0.05$)。

如图 6(a)所示,实验结束时,2 种微藻滤液培养中卵孢金孢藻的 α 均有所上升,但与对照组无明显差异($P > 0.05$)。卵孢金孢藻滤液中铜绿微囊藻的 α 在实验结束时为 0.16 ± 0.01 ,高于对照组 0.12 ± 0.02 ,但差异并不显著($P > 0.05$)。在实验结束时卵孢金孢藻滤液和对照组中四尾栅藻的 α 与实验初始相比均有所下降,但二者无显著差异($P > 0.05$)。

如图 6(b)所示,实验初始,2 种微藻滤液中卵孢金孢藻的 ETR_{max} 均显著低于对照组($P < 0.01$);实验结束时,分别升高至 $(538.90 \pm 72.27) \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 和 $(282.1 \pm 64.46) \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,与对照组无显著差异($P > 0.05$)。实验结束时,卵孢金孢藻滤液中铜绿微囊藻的 ETR_{max} 相比实验初始时有所上升,与对照组无显著差异($P > 0.05$)。卵孢金孢藻滤液中四尾栅藻的 ETR_{max} 实验初期显著高于对照组($P < 0.05$),实验结束时下降至与对照组无显著差异($P > 0.05$)。

如图 6(c)所示,实验初始时,2 种微藻滤液中卵孢金孢藻的 Ik 均低于对照组,其中,四尾栅藻滤液中卵孢金孢藻的 Ik 显著低于对照组($P < 0.05$);实验结束时,2 种微藻滤液中卵孢金孢藻的 Ik 均有所升高,与对照组无显著差异($P > 0.05$)。实验结束时,卵孢金孢藻滤液中铜绿微囊藻的 Ik 相比实验初始有所升高,与对照组无显著差异($P > 0.05$)。实验初期,卵孢金孢藻滤液中四尾栅藻的 Ik 值显著高于对照组,实验结束时,降低至与对照组无显著差异($P > 0.05$)。

2.4 实验首末滤液中 DIP 的变化

实验初始和结束时 DIP 浓度的变化情况如表 1 所示,各培养基中 DIP 浓度的下降量可以视为藻细胞对 DIP 的净摄取量。实验初始时各滤液中 DIP 浓度均低于 BG11 培养基中 DIP 浓度。铜绿微囊藻滤液中卵孢金孢藻在实验结束时对 DIP 的吸收利用量为 $2.11 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,低于 BG11 培养基中 $2.32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。卵孢金孢藻在四尾栅藻滤液中,其 DIP 浓度上升了 $1.14 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,说明卵孢金孢藻向滤液中释放了一定量的 DIP。铜绿微囊藻在卵孢金孢藻滤液中培养至实验结束时,DIP 的吸收利用量为 $0.85 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,低于 BG11 培养基中 $1.68 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。四尾栅藻在

卵孢金孢藻滤液中培养至实验结束时,DIP 的吸收利用净摄取量为 $2.42\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,高于 BG11 培养基中 $1.98\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

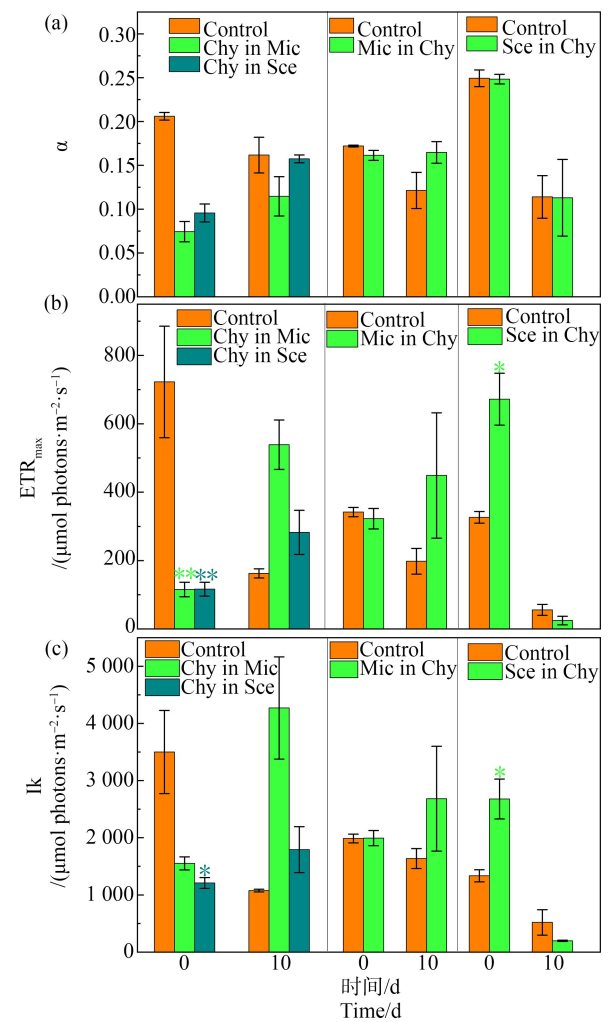


图 6 滤液培养初始和结束时卵孢金孢藻、铜绿微囊藻和四尾栅藻的光曲线初始斜率(α)、最大电子传递速率(ETR_{max})和半饱和光强(I_k)

Fig. 6 The initial slope (α), the maximum electron transport rate (ETR_{max}) and the half saturated light intensity (I_k) of light curve of *C. ovalisporum*, *M. aeruginosa* and *S. quadricauda* at the beginning and the end of the filtrate incubation

3 讨论 (Discussion)

3.1 卵孢金孢藻与铜绿微囊藻间的化感作用

光合作用是藻类最基本的物质和能量代谢途径,其活性强弱与藻类的生长密切相关。杨王庭等^[25]发现,铜绿微囊藻可通过改变代谢产物的种类和数量,影响莱茵衣藻的叶绿素含量和光合活性。在本研究中,实验前期铜绿微囊藻滤液中,卵孢金孢藻的生物量和叶绿素含量均显著低于对照组(表 2),表明铜绿微囊藻代谢产物在初期对卵孢金孢藻产生了胁迫抑制^[26]。实验后期,卵孢金孢藻恢复生长,可能是卵孢金孢藻对铜绿微囊藻滤液的中化感物质产生了适应性,或可能由于铜绿微囊藻相关代谢产物在卵孢金孢藻培养体系中发生了降解^[27]。铜绿微囊藻滤液中卵孢金孢藻的 F_v/F_m 和 Yield 先降后升,此外实验结束时,卵孢金孢藻的 α 、 ETR_{max} 和 I_k 相比实验开始时均有所升高,表明卵孢金孢藻通过提高了 PS II 中的电子传递效率等恢复了一定的光合活性^[28]。有研究发现,铜绿微囊藻分泌的微囊藻毒素(microcystin, MC)能够刺激其他藻类改变其光合色素组成^[29-30]。杜彩丽等^[31]的研究表明,卵孢金孢藻的藻胆蛋白具有比叶绿素 a 更高的胁迫耐受能力。因此,本文推测在实验后期,卵孢金孢藻有可能通过提高藻胆蛋白等其他光合色素的含量,从而在叶绿素 a 含量受抑制的情况下维持光合活性。

在本研究中,卵孢金孢藻滤液对铜绿微囊藻的生长和叶绿素含量表现出明显的“先促后抑”的趋势。铜绿微囊藻在滤液培养初期的促进作用,可视为一种“毒性兴奋效应”;在实验后期,铜绿微囊藻叶绿素 a 含量显著减少,表明铜绿微囊藻的叶绿素 a 是卵孢金孢藻代谢产物主要靶目标。叶绿素 a 是藻细胞捕光系统中起主要作用的光合色素,对于化感物质比较敏感,也可能是许多化感物质的作用靶点^[9]。研究表明,N-苯基-2-萘胺^[32]、阿魏酸^[33]和芦荟大黄素^[34]等多种物质都会引起铜绿微囊藻细胞中叶绿素 a 含量降低。此外,藻细胞受到化感物质胁迫

表 1 实验首末滤液中可溶性无机磷酸盐 (DIP) 的浓度变化

Table 1 The changes of dissolved inorganic phosphate (DIP) concentration at the beginning and the end of the filtrate incubation

时间/d	DIP/(mg·L ⁻¹)						
	Chr in BG11	Chr in Mic	Chr in Sce	Mic in BG11	Mic in Chr	Sce in BG11	Sce in Chr
0	5.11±0.06	4.87±0.03	3.92±0.05	5.18±0.07	5.08±0.05	5.24±0.05	5.03±0
10	2.79±0.11	2.76±0.08	5.06±0.24	3.5±0.10	4.23±0.18	3.26±0.05	2.61±0.05

时,会产生较多的活性氧,从而对细胞产生氧化损伤^[4],过量的活性氧也会促进叶绿素 *a* 的降解^[5]。在实验结束时,铜绿微囊藻的 α 、ETR_{max} 和 *I*_k 均与对照组无显著差异,而在 Zhang 等^[22]的实验中,卵孢金孢藻滤液不仅对片状微囊藻的生长产生显著抑制,对其 PS II 也产生了显著抑制。卵孢金孢藻对 2 种微囊藻光合系统的影响并不一致,可能是由于不同微囊藻的生物特性不同,对前者代谢产物耐受力也有差异^[36]。另外,Rzymski 等^[37]的研究表明,CYN 能强烈影响同一水体中其他浮游植物碱性磷酸酶的释放量,并且对于其他非产 CYN 的蓝藻(如铜绿微囊藻)的刺激作用更为明显;Zhang 等^[22]的研究表明,化感作用有助于水体优势种由片状微囊藻转变为卵孢金孢藻。结合本文研究结果,这可能说明产 CYN 的蓝藻的主要化感抑制的靶目标可能是同一水体中的其他蓝藻。

3.2 卵孢金孢藻与四尾栅藻间的化感作用

本实验中,四尾栅藻滤液培养下的卵孢金孢藻的生长和叶绿素 *a* 含量在 2 d 后明显下降,受到明显的抑制作用。实验结束时培养基中 DIP 浓度有所上升,可能由于大量藻细胞死亡裂解将其内含物释放所导致。Qiu 等^[38]研究发现,四尾栅藻的培养滤液能够抑制水华微囊藻分泌胞外聚合物,并证实其代谢产物 4-叔丁基邻苯二酚(TBC)能够通过干扰蛋白质和多糖的合成和分泌,抑制叶绿素合成,从而抑制了水华微囊藻的生长。滤液培养下卵孢金孢藻的 F_v/F_m 和 Yield 表现出先降后升的趋势,推测其在

实验后期也有与铜绿微囊藻滤液培养下类似的适应性变化。

在本研究中,卵孢金孢藻滤液对四尾栅藻的影响并不明显,仅在实验后期能够提高其生物量,除此之外叶绿素 *a* 含量、叶绿素荧光参数等与对照组均无显著差异。Kovács 等^[39]的实验表明,拉氏拟柱孢藻、颤藻等丝状固氮蓝藻培养滤液会对四尾栅藻的光合活性起显著的抑制作用,但在本实验中,卵孢金孢藻滤液未表现出对四尾栅藻光合活性的抑制作用。郭沛涌等^[40]研究发现,不同质量浓度的合果芋叶浸提液对四尾栅藻的抑制作用有所差异,抑制作用随质量浓度增加而增强,表明化感抑制作用强度与化感物质的浓度密切相关。由于本实验未对培养滤液中的化感成分/浓度进行测定,卵孢金孢藻滤液未对四尾栅藻表现出明显的化感作用,可能是滤液中有效化感物质浓度过低的原因。因此,有关卵孢金孢藻产生化感物质的分离测定有待进一步研究。

在本研究中,四尾栅藻对卵孢金孢藻表现出明显的化感抑制作用,而卵孢金孢藻未对四尾栅藻表现出抑制作用(表 2),这可能表明,在室内培养条件下,化感作用能够使四尾栅藻更易获得竞争优势。但在自然生境中,四尾栅藻的优势度往往不及其他蓝藻,与室内实验的结果有所不同。因为蓝藻和绿藻对营养盐的偏好有所不同,绿藻在营养盐质量高的水体(超富营养水体)中更易占优势^[41]。本实验培养基为 BG11 培养基,营养盐充足,而自然水体中藻类往往受到不同程度的营养盐胁迫。因此,在自然

表 2 滤液培养对微藻的抑制情况

Table 2 The inhibition of filtrate culture on microalgae

微藻 Microalgae	微藻滤液 Microalgal filtrate	生物量 Biomass	比生长率(μ) Specific growth rate (μ)	叶绿素 <i>a</i> Chlorophyll- <i>a</i>	光合系统 II Photosystem II
卵孢金孢藻 <i>C. ovalisporum</i>	铜绿微囊藻滤液 <i>M. aeruginosa</i> filtrate	+--	+++	+++	+++
铜绿微囊藻 <i>M. aeruginosa</i>	卵孢金孢藻滤液 <i>C. ovalisporum</i> filtrate	---	---	---	---
卵孢金孢藻 <i>C. ovalisporum</i>	四尾栅藻滤液 <i>S. quadricauda</i> filtrate	---	---	---	---
四尾栅藻 <i>S. quadricauda</i>	卵孢金孢藻滤液 <i>C. ovalisporum</i> filtrate	---	---	---	---

注:3 个“+/-”分别代表实验前期、中期和后期滤液是否对微藻产生抑制作用;“+”表示滤液对微藻表现出抑制作用,“-”表示滤液未对微藻表现出抑制作用。

Note: The three “+/-” indicate whether the filtrate has inhibitory effect on microalgae in the early, middle and late stages of the experiment; “+” indicates that the filtrate shows an inhibitory effect on microalgae; “-” indicates that the filtrate does not show an inhibitory effect on microalgae.

水体中,卵孢金孢藻与绿藻间的化感作用可能会受到营养盐水平的影响。Granéli 等^[42]的研究表明,若化感物质的产生者和目标藻类具有不同的营养偏好,在水环境中处于不同的营养限制状态时,可能会由于产生的化感物质较少导致化感作用不太明显。此外,这可能也在某种程度上,解释了在一些重度富营养化水体中,绿藻能对蓝藻产生明显化感抑制作用的现象^[43]。

通讯作者简介:张玮(1985—),男,博士,硕士生导师,主要研究方向为藻类多样性和水体生态修复。

参考文献 (References):

- [1] 由希华,王宗灵,石晓勇,等.浮游植物种间竞争研究进展[J].海洋湖沼通报,2007(4): 161-166
You X H, Wang Z L, Shi X Y, et al. Advances in the studies of phytoplankton interspecific competition [J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2007 (4): 161-166 (in Chinese)
- [2] Morris K, Harrison K A, Bailey P C E, et al. Domain shifts in the aquatic vegetation of shallow urban lakes: The relative roles of low light and anoxia in the catastrophic loss of the submerged angiosperm *Vallisneria americana* [J]. Marine and Freshwater Research, 2004, 55 (8): 749-758
- [3] 黄银爽,欧林坚,杨宇峰.广东南澳岛大型海藻龙须菜与浮游植物对营养盐的竞争利用[J].海洋与湖沼, 2017, 48(4): 806-813
Huang Y S, Ou L J, Yang Y F. Nutrient competition between macroalgae *Gracilaria lemaneiformis* and phytoplankton in coastal waters of Nan' Ao Island, Guangdong [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2017, 48(4): 806-813 (in Chinese)
- [4] 夏珊珊,常学秀,吴锋,等.蓝藻化感抑制作用研究进展[J].生态学报,2008, 28(8): 3927-3936
Xia S S, Chang X X, Wu F, et al. Advance in researches on cyanobacterium allelopathic inhibition [J]. Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(8): 3927-3936 (in Chinese)
- [5] 刘君,周嘉伟,肖鸿光,等.加拿大一枝黄花和小飞蓬叶浸提液对大豆幼苗生长的复合化感效应[J].生态毒理学报,2016, 11(4): 239-244
Liu J, Zhou J W, Xiao H G, et al. Synergistic allelopathic effects of *Solidago canadensis* and *Conyza canadensis* on seedling growth of *Glycine max* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(4): 239-244 (in Chinese)
- [6] 柳均,汪宏毅,周冀衡,等.烟草凋萎叶早期腐解液对莴苣的化感作用[J].生态毒理学报,2011, 6(5): 515-522
Liu J, Wang H Y, Zhou Y H, et al. Allelopathy of inchoate decomposing liquid of tobacco withered leaves on lettuce [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2011, 6(5): 515-522 (in Chinese)
- [7] Nakai S, Inoue Y, Hosomi M, et al. *Myriophyllum spicatum*-released allelopathic polyphenols inhibiting growth of blue-green algae *Microcystis aeruginosa* [J]. Water Research, 2000, 34(11): 3026-3032
- [8] Lupoae M, Lupoae P, Borda D, et al. Allelopathic potential of the *Ranunculus rionii* lagger and *Ceratophyllum demersum*. Extracts against microbial and microalgal cultures [J]. Environmental Engineering and Management Journal, 2016, 15(2): 473-480
- [9] 祁茜,辛建攀,李文明,等.化感效应及其对藻类光合作用影响的研究进展[J].环境科学与技术,2019, 42(4): 43-52
Qi Q, Xin J P, Li W M, et al. Research advance on allelopathy and its inhibitory effects of algae photosynthetics [J]. Environmental Science and Technology, 2019, 42(4): 43-52 (in Chinese)
- [10] Śliwińska-wilczewska S, Felpeto A B, Maculewicz J, et al. Allelopathic activity of the picocyanobacterium *Synechococcus* sp. on unicellular eukaryote planktonic microalgae [J]. Marine and Freshwater Research, 2018, 69(9): 1472-1479
- [11] Carey C C, Karin R. The cyanobacterium *Gloeotrichia echinulata* stimulates the growth of other phytoplankton [J]. Journal of Plankton Research, 2010, 32(9): 1349-1354
- [12] Irfanullah H M, Moss B. Allelopathy of filamentous green algae[J]. Hydrobiologia, 2005, 543(1): 169-179
- [13] 宋立荣,李林,陈伟,等.水体异味及其藻源次生代谢产物研究进展[J].水生生物学报,2004(4): 434-439
Song L R, Li L, Chen W, et al. Research progress on the off-flavours and secondary metabolites of algae in the aquatic environment [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2004 (4): 434-439 (in Chinese)
- [14] Suikkanen S, Fistarol G O, Granéli E. Allelopathic effects of the Baltic cyanobacteria *Nodularia spumigena*, *Aphanizomenon flos-aquae* and *Anabaena lemmermannii* on algal monocultures [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2004, 308(1): 85-101
- [15] Burford M A, Beardall J, Willis A, et al. Understanding the winning strategies used by the bloom-forming cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* [J]. Harmful Algae, 2016, 54: 44-53
- [16] Akcaalan R, Köker L, Oğuz A, et al. First report of cylindrospermopsin production by two cyanobacteria (*Dolichospermum mendotae* and *Chrysosporum ovalisporum*) in

- Lake Iznik, Turkey [J]. *Toxins*, 2014, 6(11): 3173-3186
- [17] Fadel A, Atoui A, Lemaire B J, et al. Dynamics of the toxin cylindrospermopsin and the cyanobacterium *Chrysosporum* (*Aphanizomenon*) *ovalisporum* in a Mediterranean eutrophic reservoir [J]. *Toxins*, 2014, 6(11): 3041-3057
- [18] Crawford A, Holliday J, Merrick C, et al. Use of three monitoring approaches to manage a major *Chrysosporum ovalisporum* bloom in the Murray River, Australia [J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2016, 189(4): 202
- [19] 张玮, 尚光霞, 张军毅, 等. 卵孢金孢藻(*Chrysosporum ovalisporum*)——中国水华蓝藻新记录[J]. *植物科学学报*, 2018, 36(2): 185-190
- Zhang W, Shang G X, Zhang J Y, et al. First report of bloom forming cyanobacterial species *Chrysosporum ovalisporum* in China [J]. *Plant Science Journal*, 2018, 36(2): 185-190 (in Chinese)
- [20] 沈强, 胡菊香, 赵先富. 我国蓝藻水华发生格局及监控预警现状[J]. *河海大学学报: 自然科学版*, 2010, 38(Suppl.2): 373-377
- [21] Bar-Yosef Y, Sukenik A, Hadas O, et al. Enslavement in the water body by toxic *Aphanizomenon ovalisporum*, inducing alkaline phosphatase in phytoplanktons [J]. *European Journal of Phycology*, 2010, 20(17): 1557-1561
- [22] Zhang W, Jeppesen E, Wang M M, et al. Allelopathic effect boosts *Chrysosporum ovalisporum* dominance in summer at the expense of *Microcystis panniformis* in a shallow coastal water body [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 24: 4666-4675
- [23] Sarchizian I, Ardelean I I. Axenic culture of a diazotrophic filamentous cyanobacterium isolated from mesothermal sulphurous springs (Obanul Mare-Mangalia) [J]. *Plant Biology*, 2010, 55: 47-53
- [24] 中华人民共和国国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 244-258
- [25] 杨王庭, 赵静娴, 徐庆欢, 等. 无磷条件诱导铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)释放挥发性有机化合物对莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)的影响[J]. *湖泊科学*, 2018, 30(2): 449-457
- Yang W T, Zhao J X, Xu Q H, et al. Phosphorus deficiency inducing volatile organic compounds from *Microcystis aeruginosa* and their effects on *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2018, 30(2): 449-457 (in Chinese)
- [26] El-Sheekh M, Khairy H, El-Shenody R. Allelopathic effects of cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* Kützinger on the growth and photosynthetic pigments of some algal species [J]. *Allelopathy Journal*, 2010, 26(2): 275-290
- [27] Le P N, Vasconcelos M T S D, Vasconcelos V. Allelopathy in freshwater cyanobacteria [J]. *Critical Reviews in Microbiology*, 2009, 35(4): 271-282
- [28] 宋娅婷, 林军, 沈敏, 等. 环境因子对中肋骨条藻生长及叶绿素荧光特性的影响[J]. *上海海洋大学学报*, 2020, 29(3): 346-354
- Song Y T, Lin J, Shen M, et al. Effects of environmental factors on the growth and chlorophyll fluorescence characteristics of *Skeletonema costatum* [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2020, 29(3): 346-354 (in Chinese)
- [29] 彭少麟, 文军, 郭勤峰. 植物化感物质活性变化及其作用机理研究进展[J]. *植物学报*, 2004, 46(7): 757-766
- Peng S L, Wen J, Guo Q F. Mechanism and active variety of allelochemicals [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2004, 46(7): 757-766 (in Chinese)
- [30] Pflugmacher S. Possible allelopathic effects of cyanotoxins, with reference to microcystin-LR, in aquatic ecosystems [J]. *Environmental Toxicology*, 2002, 17(4): 407-413
- [31] 杜彩丽, 张玮, 张军毅, 等. 蜉蝣菊水提液对水华蓝藻——卵孢金孢藻的化感作用研究[J]. *生态毒理学报*, 2019, 14(2): 231-241
- Du C L, Zhang W, Zhang J Y, et al. Allelopathic effects of *Wedelia chinensis* water extracts on the cyanobacterium *Chrysosporum ovalisporum*, a species causing algal bloom [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2019, 14(2): 231-241 (in Chinese)
- [32] Qian H, Xu X, Chen W, et al. Allelochemical stress causes oxidative damage and inhibition of photosynthesis in *Chlorella vulgaris* [J]. *Chemosphere*, 2009, 75(3): 370-375
- [33] 杨萌, 刘喆, 杨笑宇, 等. 阿魏酸类化合物对铜绿微囊藻的化感作用及富里酸对化感作用的影响[J]. *生态环境学报*, 2018, 27(8): 1530-1537
- Yang M, Liu Z, Yang X Y, et al. Allelopathy effects of ferulic acid derivatives on *Microcystis aeruginosa* and the effect of fulvic acid on allelopathy [J]. *Ecology and Environment Sciences*, 2018, 27(8): 1530-1537 (in Chinese)
- [34] 赵红艳, 王娇, 曹井国, 等. 芦荟大黄素对铜绿微囊藻的化感抑制作用研究[J]. *生物学杂志*, 2020, 37(5): 53-57
- Zhao H Y, Wang J, Cao J G, et al. Allelopathic inhibition of aloe emodin on *Microcystis aeruginosa* [J]. *Journal of Biology*, 2020, 37(5): 53-57 (in Chinese)
- [35] 孙锦, 贾永霞, 郭世荣, 等. 海水胁迫对菠菜(*Spinacia oleracea* L.)叶绿体活性氧和叶绿素代谢的影响[J]. *生态学报*, 2009, 29(8): 4361-4371
- Sun J, Jia Y X, Guo S R, et al. Effects of seawater stress

- on metabolism of reactive oxygen species and chlorophyll in chloroplasts of spinach (*Spinacia oleracea* L.) [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(8): 4361-4371 (in Chinese)
- [36] Bittencourt-Oliveira M C, Camargo-Santos D, Moura A d N, et al. Effects of toxic and non-toxic crude extracts on different *Microcystis* species (cyanobacteria) [J]. *African Journal of Microbiology Research*, 2013, 7 (21): 2596-2600
- [37] Rzymiski P, Poniedziałek B, Kokociński M, et al. Interspecific allelopathy in cyanobacteria: *Cylindrospermopsis* and *Cylindrospermopsis raciborskii* effect on the growth and metabolism of *Microcystis aeruginosa* [J]. *Harmful Algae*, 2014, 35: 1-8
- [38] Qiu Y, Wang Z, Liu F, et al. Inhibition of *Scenedesmus quadricauda* on *Microcystis flos-aquae* [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, 103(1): 5907-5916
- [39] Kovács A W, Tóth T V, Károly P. The effects of interspecific interactions between bloom forming cyanobacteria and *Scenedesmus quadricauda* (*Chlorophyta*) on their photophysiology [J]. *Acta Biologica Hungarica*, 2018, 69 (2): 210-223
- [40] 郭沛涌, 李庆华, 江中央, 等. 2种陆生植物浸提液对四尾栅藻的化感作用[J]. *浙江大学学报: 理学版*, 2011, 38(5): 555-561
- Guo P Y, Li Q H, Jiang Z Y, et al. Allelopathy of two kinds of terraneous plant extracts on *Scenedesmus quadricauda* [J]. *Journal of Zhejiang University: Science Edition*, 2011, 38(5): 555-561 (in Chinese)
- [41] 朱伟, 万蕾, 赵联芳. 不同温度和营养盐质量浓度条件下藻类的种间竞争规律[J]. *生态环境*, 2008, 17(1): 6-11
- Zhu W, Wan L, Zhao L F. Interspecies competition rule of algae under different temperature and nutrient concentration condition [J]. *Ecology and Environment*, 2008, 17(1): 6-11 (in Chinese)
- [42] Granéli E, Weberg M, Salomon P S. Harmful algal blooms of allelopathic microalgal species: The role of eutrophication [J]. *Harmful Algae*, 2008, 8(1): 94-102
- [43] Trochine C, Guerrieri M, Liboriussen L, et al. Filamentous green algae inhibit phytoplankton with enhanced effects when lakes get warmer [J]. *Freshwater Biology*, 2011, 56 (3): 541-553
- ◆