

壶状臂尾轮虫 (*Brachionus urceus*) 培养滤液 对斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 形态 和多聚糖含量的影响

杨 州^{1,2}, 孔繁翔², 史小丽², 张 民²

(1. 南京师范大学生命科学学院江苏省生物多样性与生物技术重点实验室, 南京 210046;

2 中国科学院南京地理与湖泊研究所, 南京 210008)

摘要:分离自太湖的壶状臂尾轮虫 (*Brachionus urceus* (Linnaeus)) 按 $1000 \text{ ind} \cdot \text{L}^{-1}$ 的密度置于斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 中培养 24h 后, 用孔径 $0.10 \mu\text{m}$ 的微孔滤膜抽滤, 得到壶状臂尾轮虫培养滤液。将壶状臂尾轮虫培养滤液以 20% 的比例添加到纯培养的斜生栅藻中, 进行为期 7d 的试验。结果表明壶状臂尾轮虫培养滤液能显著地影响斜生栅藻的形态, 处理组中诱发性多细胞群体增加, 导致处理组中斜生栅藻种群平均每个个体的细胞数量显著高于对照组。斜生栅藻在壶状臂尾轮虫诱发下形成群体可以解释为一种诱发性的反牧食防御, 同时也进一步证实了栅藻对浮游动物牧食的响应是一种广泛存在的现象。壶状臂尾轮虫培养滤液处理后的斜生栅藻在生长率上与对照组没有显著性差异, 说明诱发性防御群体形成的代价没有体现在对生长的影响上。在壶状臂尾轮虫培养滤液诱发下, 较多栅藻细胞聚积在一起形成群体后, 栅藻溶解性胞外多聚糖和固着性胞外多聚糖均有显著提高, 而胞内多聚糖略有下降。但从总多聚糖含量看, 处理组明显高于对照组, 这也说明轮虫培养滤液刺激了栅藻多聚糖合成的额外增加, 且被分泌到胞外, 充当细胞之间的粘合物, 促使细胞容易聚合形成群体, 有效防御象轮虫这些小型浮游动物的进一步牧食, 保持种群得以延续。

关键词:壶状臂尾轮虫 *Brachionus urceus* (Linnaeus); 斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*); 形态变化; 群体形成; 生长率; 胞外多聚糖

文章编号: 1000-0933(2008)04-1857-07 中图分类号: Q958.885.3 文献标识码: A

Effect of *Brachionus urceus* culture media filtrate on the morphology and polysaccharides content in *Scenedesmus obliquus*

YANG Zhou^{1,2}, KONG Fan-Xiang², SHI Xiao-Li², ZHANG Min²

1 Key Laboratory for Biodiversity and Biotechnology of Jiangsu Province, School of Biological Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China

2 Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(4): 1857 ~ 1863.

Abstract: *Brachionus urceus* (Linnaeus) isolated from Lake Taihu was incubated at a density of $100 \text{ individual} \cdot \text{L}^{-1}$ for 24

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30670404, 30400062); 国家重点基础研究发展计划资助项目(2002CB412305); 江苏省自然科学基金资助项目(BK2007743)

收稿日期:2007-01-14; **修订日期:**2007-09-17

作者简介:扬州(1971~), 男, 安徽蚌埠人, 博士, 副教授, 主要从事以藻类与浮游动物相互作用为主的淡水生态学研究. E-mail: yangzhouff@vip.sina.com

Foundation item: The project was financially supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30670404, 30400062); the State Key Fundamental Research and Development Program (No. 2002CB412305); the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (No. BK2007743)

Received date: 2007-01-14; **Accepted date:** 2007-09-17

Biography: YANG Zhou, Ph. D., Associate professor, mainly engaged in freshwater ecology, particularly interested in interaction between algae and zooplankton. E-mail: yangzhouff@vip.sina.com

h with sufficient *Scenedesmus obliquus* as food. After 24 h, the culture media was filtered through a 0.10 μm membrane filter and used as test water, which contained some infochemicals exuded by *B. urceus*. In the treatment, 20 ml *B. urceus* culture media filtrate was added to an 80-ml suspension of *S. obliquus*, while in the control, 20 ml BG-11 medium was added. The experiment was run in triplicate for 7 days at 25°C in photoperiod of 12L:12D. The results showed that exposure to the *B. urceus* culture media filtrate induced colony formation and promoted the mean number of cells per individual in *S. obliquus* population significantly ($P < 0.05$). Colony formation in *S. obliquus* population induced by *B. urceus* increased their resistance and thus reduced the risk of being grazed, which can be viewed as a kind of inducing defense, and also further demonstrated the morphological responses of *Scenedesmus* to herbivorous zooplankton is rather widespread. No significant difference in growth rate was detected between unicellular and colonial *S. obliquus*, suggesting that the cost of inducible defense of colony formation did not reflect on these indices. The contents of soluble extracellular polysaccharides and bounded extracellular polysaccharides in *S. obliquus* increased significantly after colony formation, whereas the content of intracellular polysaccharides decreased slightly. The total content of polysaccharides in the treatment was obviously higher than that in the control. These results indicate that rotifer culture media filtrate stimulate *S. obliquus* to increase the synthesis of polysaccharides that are primarily secreted from the cells and may act as the cementing material which aggregates the cells firmly together to form colonies. Such large morphologies of *S. obliquus* can effectively deter the alga from grazing by small zooplankton, like *B. urceus*, and may aid in the survival of *S. obliquus* in nature when confronted by rotifers.

Key Words: *Brachionus urceus*; *Scenedesmus obliquus*; morphological alteration; colony formation; growth rate; extracellular polysaccharides

栅藻属种类是最常见的一类淡水藻,在世界各地的淡水水体、甚至在土壤中都有分布,它们能全球性分布的特性说明这类生物对环境条件的耐受范围很广^[1]。而在藻类中,随着环境条件的变化而产生相应的单细胞和群聚体或其它形态之间的相互转化是一种广泛存在的适应现象,称为表型可塑性^[2]。栅藻属成员就是这些具有表型可塑性藻类的典型代表。很多因素都可以影响这些藻类在单细胞和群体表型之间的转换^[3~5],而牧食者浮游动物在对藻类牧食作用的过程中,释放的信息化学物质能诱发藻类形成群体在最近已引起很多研究者的关注。不少研究发现,在纯培养的栅藻中加入浮游动物的培养滤液,两天后栅藻种群即以群聚体形态占优势^[6~16]。栅藻种群由纯培养中单细胞占优势转变为多细胞群聚体占优势,增大了浮游动物摄食阻力从而降低摄食速率,说明这是栅藻的一种诱发性防御响应,能有效阻止浮游动物的进一步牧食,是其维持种群规模相对稳定的生态对策之一^[10~17]。

栅藻在浮游动物的牧食压力下形成诱发性群体,说明原先单细胞表面的粘性增强,从而使得单细胞容易聚合成群体或者单细胞在分裂时子细胞无法分离而形成群聚体,推测细胞表面的粘性增强可能意味着细胞表面的多聚糖含量增高了,也就是说栅藻在群聚体形成过程中胞外多聚糖的含量可能产生了相应的变化并对群聚体形成发挥了一定作用。但目前国内外均无相关的研究报道,因而有必要通过实验来确认是否存在这种变化。此外,也无关干壶状臂尾轮虫 *Brachionus urceus* 对斜生栅藻 *Scenedesmus obliquus* 形态变化和生长率有何影响的报道。本实验选用了分离自太湖、在实验室条件下纯培养的壶状臂尾轮虫,研究了它们的培养滤液对斜生栅藻种群的影响。

1 材料与方法

1.1 藻种来源及其培养条件

试验用斜生栅藻取自中国科学院武汉水生生物研究所藻种库。全部采用 BG-11 培养基培养^[18],光照强度为 2200 lx,培养温度 25°C,光周期 L:D = 12h:12h。

1.2 浮游动物来源及其培养条件

试验用壶状臂尾轮虫 *Brachionus urceus* 采自太湖梅梁湾,分离后纯培养于实验室。每天投喂一次斜生栅藻,投喂藻液的密度约 $0.50 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$,培养温度 25°C ,室内自然光照强度及光周期。

1.3 浮游动物培养滤液的制备

在研究藻类对浮游动物潜在牧食压力的响应时,把浮游动物培养滤液添加到纯培养的藻类中是一种常用的方法^[17]。为了得到壶状臂尾轮虫代谢过程中释放的一些信息物质,首先把壶状臂尾轮虫饥饿一天排空后,置于无菌水中清洗 1h,反复进行 3 次,以便去除体表附带以及可能的排泄物质而带来的外源营养盐增加,然后分别按照 $1000 \text{ ind} \cdot \text{L}^{-1}$ 初始密度,在 25°C 、光照强度 2200 lx 、光周期 $\text{L:D} = 12\text{h}:12\text{h}$ 条件下,投喂斜生栅藻(密度约 $1.00 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$)培养。24h 后,使用 300 目网布过滤去除轮虫,然后把轮虫培养液用孔径 $0.10 \mu\text{m}$ 的微孔滤膜(Millipore, USA)抽滤 100 ml,即得到壶状臂尾轮虫培养滤液,在这种滤液中含有壶状臂尾轮虫生命活动过程中释放的一些信息物质。对所得到的培养滤液,其中的主要营养物质总氮和总磷含量通过添加相应的营养盐调整达到与新鲜 BG-11 培养基中的含量一致后,立即用于实验。

1.4 试验设计

取斜生栅藻 80 ml 置于 250 ml 锥形瓶中,试验处理组添加 20 ml 壶状臂尾轮虫培养滤液,对照组添加 20 ml BG-11 培养基。斜生栅藻的试验起始密度为 $2.99 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ml}^{-1}$ 。每组设 3 个重复,试验条件同上,每天定时对上述实验培养物摇匀 3 次。上述操作过程均在无菌状态下进行。试验进行 7d,期间每天定时取样,显微镜下计数每个样品单位体积(计数 0.1 mm^3)中总个体数以及总细胞数。

1.5 形态变化指标以及生长率分析

为了能较准确地反应出斜生栅藻出现的形态变化,采用平均每个个体的细胞数量来表达。根据上述显微计数,可以计算出藻类平均每个个体的细胞数量及生长率。生长率(r)计算公式为: $r = (\ln N_t - \ln N_0) \times \Delta t^{-1}$,其中 N_t 为试验结束时的藻细胞密度($\text{cell} \cdot \text{ml}^{-1}$), N_0 为试验起始的藻细胞密度, Δt 为试验持续时间(d)。

1.6 多聚糖含量的检测

在实验结束时,进行多聚糖含量的检测。对照组和轮虫培养滤液处理组的斜生栅藻多聚糖的检测分为溶解性胞外多聚糖(Soluble Extracellular Polysaccharides, sEPS)、固着性胞外多聚糖(Bounded Extracellular Polysaccharides, bEPS)和胞内多聚糖含量(Intracellular Polysaccharides, IPS)。

取每个培养瓶中藻液各 10 ml, 16000 r/min 离心 15min 后,取出上清液,用 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜(Whatman, USA)过滤,滤液加入透析袋置于去离子水中透析,用于测定溶解性胞外多聚糖含量。

上述离心获得的藻团加去离子水摇匀至 10 ml,加 NaOH 调节 pH 为 10,置于 45°C 温水中水浴提取 4h,然后 16000 r/min 离心 15min,取上清液用 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤,滤液加入透析袋置于去离子水中透析,用于测定固着性胞外多聚糖含量。

第二次离心后的藻团加入 2 ml 去离子水,再用 JY92-2D 超声波细胞粉碎机(900W, 超声 20s, 间隔 10s, 10min)破碎后加去离子水至 10 ml 置于水浴锅中热水 85°C 水浴提取 1h,胞内多聚糖溶解出来后,加入体积分数 17% 的三氯乙酸^[19], 16000 r/min 离心 15min 去除色素和蛋白,离心后上清液用 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤,滤液加入透析袋置于去离子水中透析,用于测定胞内多聚糖含量。

上述过程基本可以把藻细胞 3 部分的多聚糖分开^[20],所获得的溶解性胞外多聚糖、固着性胞外多聚糖和胞内多聚糖分别置于透析袋(14000Da)中 4°C 低温透析至少 48h,采用蒽酮法测定^[21]。

1.7 数据处理

上述所有检测指标均采用平均数 $\pm$ 标准差的方式表达,然后对处理组和对照组的结果进行显著性检验,对于所有试验数据使用 Origin 7.0 进行处理。

2 结果

2.1 斜生栅藻的形态变化

实验开始 2d 后,在轮虫培养滤液处理组中观察到了群聚体形成,而对照组种群中依然是单细胞和 2 细胞处

于优势(图1)。在处理组中,形成了一些4细胞和8细胞的群聚体。处理组平均每个个体细胞数量由1.77增加至本实验最高时的2.36,而对照组基本保持不变,处理组和对照组的平均每个个体细胞数量从第3天起出现显著性差异($P < 0.05$,图2)。这说明壶状臂尾轮虫培养滤液能显著地提高斜生栅藻平均每个个体的细胞数量。

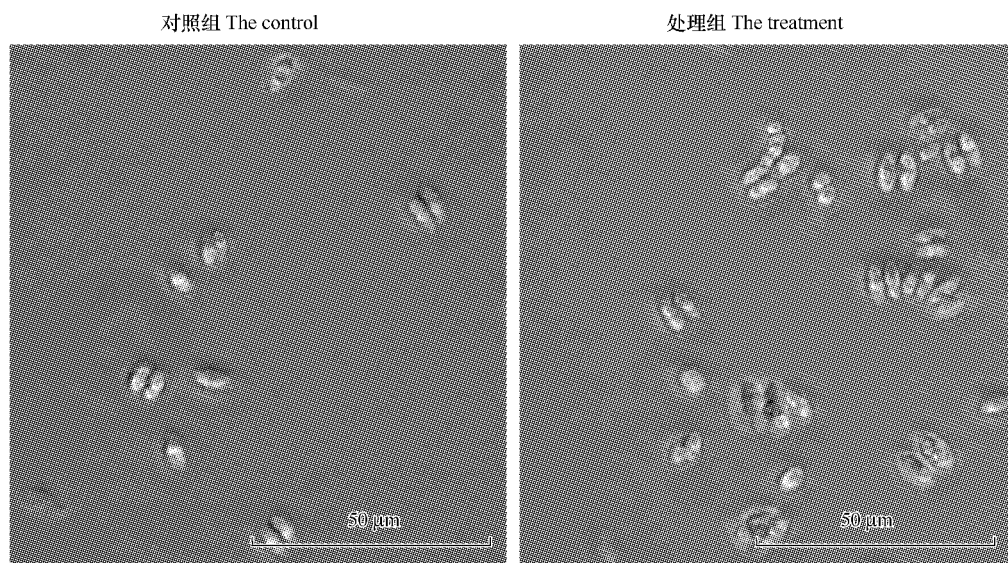


图1 对照组和壶状臂尾轮虫滤液处理组斜生栅藻的形态变化

Fig. 1 Colonies of *Scenedesmus obliquus* induced in the treatment of *Brachionus urceus* culture media filtrate and unicells or paired cells in the control. Scale bars indicate 50 μm

2.2 斜生栅藻的生长率

如图3所示,试验期间,壶状臂尾轮虫处理组和对照组斜生栅藻的生长率分别为 $(0.1615 \pm 0.0148) \text{ d}^{-1}$ 和 $(0.1670 \pm 0.0438) \text{ d}^{-1}$,两者之间无显著差异($P > 0.05$)。这说明轮虫培养滤液对斜生栅藻的生长没有显著影响。

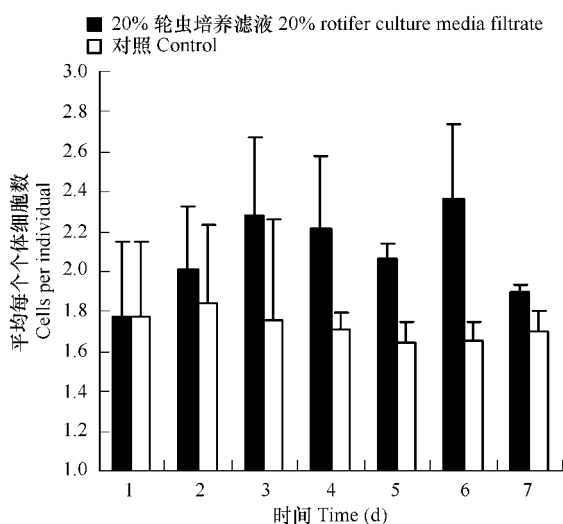


图2 壶状臂尾轮虫培养滤液处理组和对照组中斜生栅藻平均每个个体细胞数的变化

Fig. 2 Changes of mean number of cells per individual of *Scenedesmus obliquus* in the treatment of *Brachionus urceus* culture media filtrate and in the control; Vertical lines represent one SD

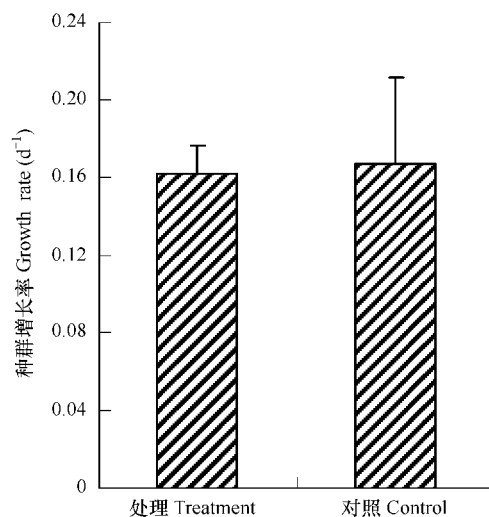


图3 壶状臂尾轮虫培养滤液处理组和对照组斜生栅藻的生长率

Fig. 3 Growth rate of *S. obliquus* in the treatment of *Brachionus urceus* culture media filtrate and in the control

2.3 斜生栅藻多聚糖含量的变化

如图 4 所示,在添加了壶状臂尾轮虫培养滤液的斜生栅藻中,溶解性胞外多聚糖含量处理组为 $0.2500 \text{ pg} \cdot \text{cell}^{-1}$,对照组为 $0.0859 \text{ pg} \cdot \text{cell}^{-1}$,处理组显著高于对照组 ($P = 0.0366$);固着性胞外多聚糖在处理组为 $0.7820 \text{ pg} \cdot \text{cell}^{-1}$,对照组为 $0.0700 \text{ pg} \cdot \text{cell}^{-1}$,处理组也基本显著高于对照组 ($P = 0.0504$);胞内多聚糖处理组为 $0.3750 \text{ pg} \cdot \text{cell}^{-1}$,对照组为 $0.4870 \text{ pg} \cdot \text{cell}^{-1}$,对照组略高于处理组,但两者间无显著性差异 ($P = 0.6593$)。壶状臂尾轮虫培养滤液处理组和对照组栅藻总多聚糖含量分别为 1.4070 和 $0.6430 \text{ pg} \cdot \text{cell}^{-1}$,处理组高于对照组,但两者间也无显著性差异(图 5, $P = 0.1087$)。上述结果表明,斜生栅藻不同部位多聚糖含量受到壶状臂尾轮虫培养滤液的影响程度存在明显差别。

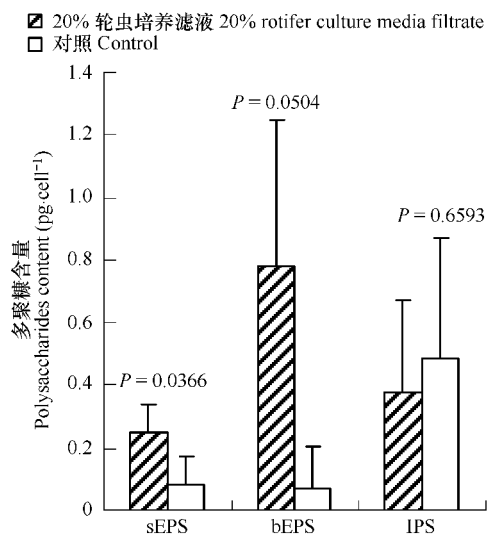


图 4 壶状臂尾轮虫培养滤液处理组和对照组多聚糖含量的变化

Fig. 4 Changes in polysaccharides content of *Scenedesmus obliquus* in the treatment of *Brachionus urceus* culture media filtrate and in the control

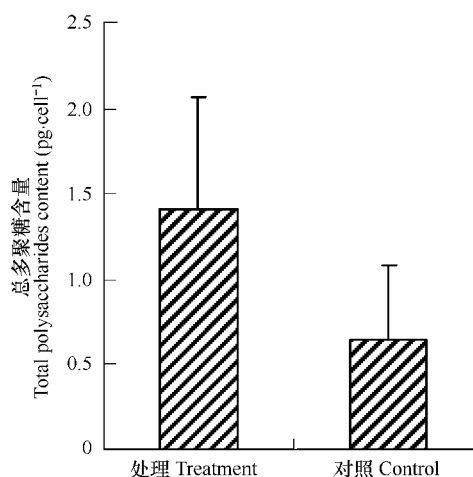


图 5 壶状臂尾轮虫培养滤液处理组和对照组斜生栅藻总多聚糖含量的变化

Fig. 5 Changes in total polysaccharides content of *Scenedesmus obliquus* in the treatment of *Brachionus urceus* culture media filtrate and in the control

3 讨论

3.1 浮游动物培养滤液对斜生栅藻群聚体形成的影响

在本实验中,采用了以前相关研究从未报道使用过的壶状臂尾轮虫培养滤液进行了对斜生栅藻群聚体形成诱发的研究,诱发了栅藻群聚体的增加,并导致和对照组出现显著差异,说明壶状臂尾轮虫在生活过程中释放的一些信息物质能诱发和增强栅藻群聚体形成,同时也进一步说明栅藻的诱发性群聚体形成是对种类广泛的植食性浮游动物牧食的一种普遍反应。很多藻类相对于它们的牧食者都要小的多,这意味着一旦遭遇牧食者就不可能幸存,一种有效的反牧食方法就是增加个体大小。如果单细胞藻类在遭遇牧食者之前就能通过感受牧食者释放的信息物质觉察到牧食者的存在并产生相应的形态变化,增大摄食阻力,从而降低被牧食风险,将是一种有效的防御策略。因此,栅藻在变化的牧食压力作用下产生能增大摄食阻力的形态变化可以解释为一种诱发性反牧食防御^[10~12]。相对于固定防御而言,诱发性防御具有更明显的益处,不需要消耗很多能量代价来维持这种防御,只是在需要时才被诱发出来发挥作用,起诱发作用的就是来自浮游动物的牧食压力。植食性浮游动物在牧食藻类过程中释放的利他信息物质,诱发藻类形成群聚体,避免藻类被过度牧食,使得栅藻维持了一定的种群规模,这是两者间长期协同进化的结果^[22]。本试验中采用壶状臂尾轮虫培养滤液导致处理组斜生栅藻的平均每个个体细胞数显著地高于对照组,同前人使用其它浮游动物研究的结果基本一致^[6~16]。但在本试验中,壶状臂尾轮虫滤液的诱发能力相对于文献中报道的其它枝角类明显要弱一些,这可能说明斜生栅藻形成群体的响应与浮游动物的实际牧食能力相关联,或许是对潜在牧食强度的有效防御和最

大限度吸收营养物质能力之间权衡的结果。

3.2 浮游动物培养滤液对斜生栅藻生长的影响

很多关于浮游动物培养滤液对栅藻群聚体形成的研究中,都发现对栅藻的生长没有显著影响^[8~12],本试验也得出与上述研究类似的结果。对于栅藻,在诱发形成群聚体产生有效防御的过程中,在获得了降低被牧食益处的同时,肯定会在其它某些方面付出代价,比如大的群聚体相对于单细胞而言,在获得溶解性营养物质、光照等资源时要弱,表现在生长水平上可能有较低的生长率^[23]。但是,在栅藻的诱发性防御中,这种防御代价在生长指标上却难以检测到^[8~12],可能是由于人工培养条件环境优越资源充足,也可能是这种防御代价已经体现在其它方面但尚未反映到生长率水平上。一些研究者认为,在栅藻中形成群体后增加了沉降而远离营养层,这种沉降损失可能就是反牧食防御代价^[13~16]。

3.3 诱发性群聚体形成与胞外多聚糖含量的关系

在轮虫培养滤液诱发下,处理组中形成的群体明显增多增大,较多栅藻细胞聚积在一起形成群聚体,说明原先的单细胞表面的粘性增强,也就是说与细胞表面粘性有关的胞外多聚糖含量可能增高了,本实验的结果证实了这一点。溶解性胞外多聚糖和固着性胞外多聚糖处理组都比对照组显著提高,同席藻 *Phormidium autumnale* 一样,在原生动物的强牧食压力下胞外多聚糖分泌量明显增加^[24]。可见,斜生栅藻形成群体与否以及形成的群体大小,同其它一些藻类相类似,藻细胞聚集与胞外多聚糖分泌量密切相关^[24~27],特别是固着性胞外多聚糖的含量应该与藻细胞聚集体的形成有直接关系。本实验中发现胞外多聚糖含量在处理组中显著增加,而胞内多聚糖则有不同程度的下降,但相对于对照组而言,下降不显著,而且胞内多聚糖下降的量也远远低于胞外多聚糖增加的量,这说明诱发性群聚体中栅藻胞外多聚糖的增加主要不是由于胞内多聚糖往胞外的转移,而是由于大量新合成的多聚糖胞外分泌的结果。从总多聚糖含量的分析来看,处理组明显高于对照组,这也说明浮游动物培养滤液刺激了栅藻多聚糖合成的额外增加,且被分泌到胞外,充当细胞之间的粘合剂。我们推测,触发多聚糖分泌的启动,最先的步骤可能就是浮游动物释放的信息物质达到一定阈值;而浮游动物释放的信息物质达到一定阈值后,说明外界浮游动物的潜在牧食压力足够大,栅藻细胞膜表面存在的相关受体感受到这种信息后,通过一系列反应促使胞外多聚糖合成增强,从而导致胞外多聚糖分泌量增加,促使细胞容易聚合而形成群聚体,有效防御浮游动物的进一步牧食,使得种群得以延续。其中的过程与机理还有待进一步探索和验证。

References:

- [1] Trainor F R. Biological aspects of *Scenedesmus* (Chlorophyceae)-phenotypic plasticity. *Nova Hedwigia*, Beiheft, 1998, 117, 367.
- [2] West-Eberhard M. Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1989, 20: 249—278.
- [3] Holtmann T, Hegewald E. The influences of nutrient solutions on the variability of the genus *Scenedesmus* subgenus *Acutodesmus*. *Algological Studies*, 1986, 44: 365—380.
- [4] Trainor F R. Cyclomorphosis in *Scenedesmus subspicatus* (Chlorococcales, Chlorophyta): stimulation of colony development at low temperature. *Phycologia*, 1993, 32(6): 429—433.
- [5] Trainor F R. The sequence of ecomorph formation in a phenotypically plastic, multispired *Scenedesmus* species (Chlorophyceae). *Archiv für Hydrobiologie*, 1995, 133: 161—171.
- [6] Hessen D O, Van Donk E. Morphological-changes in *Scenedesmus* induced by substances released from *Daphnia*. *Archiv für Hydrobiologie*, 1993, 127 (2): 129—140.
- [7] Lampert W, Rothhaupt K O, Von Elert E. Chemical induction of colony formation in a green-alga (*Scenedesmus acutus*) by grazers (*Daphnia*). *Limnology and Oceanography*, 1994, 39 (7): 1543—1550.
- [8] Lüring M. Effect of grazing-associated infochemicals on growth and morphological development in *Scenedesmus acutus* Meyen (Chlorophyceae). *Journal of Phycology*, 1998, 34: 578—586.
- [9] Lüring M. Grazer-induced coenobial formation in clonal cultures of *Scenedesmus obliquus* (Chlorococcales, Chlorophyceae). *Journal of Phycology*, 1999, 35 (1): 19—23.
- [10] Lüring M, Van Donk E. Zooplankton-induced unicellcolony transformation in *Scenedesmus acutus* and its effect on growth of herbivore *Daphnia*.

- Oecologia, 1996, 108: 432—437.
- [11] Lüring M, Van Donk E. Morphological changes in *Scenedesmus* induced by infochemicals released in situ from zooplankton grazers. Limnology and Oceanography, 1997, 42 (4): 783—788.
- [12] Lüring M, Van Donk E. Grazer-induced colony formation in *Scenedesmus acutus* (Chlorophyceae): Ecomorph expression at different temperatures. Journal of Phycology, 1999, 35: 1120—1126.
- [13] Lüring M, Van Donk E. Grazer-induced colony formation in *Scenedesmus*: are there costs to being colonial? Oikos, 2000, 88: 111—118.
- [14] Lüring M. Phenotypic plasticity in the green algae *Desmodesmus* and *Scenedesmus* with special reference to the induction of defensive morphology. Annales De Limnologie-International Journal of Limnology, 2003, 39 (2): 85—101.
- [15] Lüring M. The effect of substances from different zooplankton species and fish on the induction of defensive morphology in the green alga *Scenedesmus obliquus*. Journal of Plankton Research, 2003, 25(8): 979—989.
- [16] Van Holthoorn F L, Van Beek T A, Lüring M, et al. Colony formation in *Scenedesmus*: a literature overview and further steps towards the chemical characterisation of the *Daphnia* kairomone. Hydrobiologia, 2003, 491: 241—254.
- [17] Yang Z, Kong F X. Effects of zooplankton grazing on colony formation in algae: a review. Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(8): 2083—2089.
- [18] Rippka R, Deruelles J, Waterbury J, et al. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. Journal of General Microbiology, 1979, 111: 1—61.
- [19] Frengova G I, Simova E D, Beshkova D M, et al. Production and monomer composition of exopolysaccharides by yogurt starter cultures. Canadian Journal of Microbiology, 2000, 46: 1123—1127.
- [20] De Brouwer J F C, Wolfstein K, Stal L J. Physical characterization and diel dynamics of different fractions of extracellular polysaccharides in an axenic culture of a benthic diatom. European Journal of Phycology, 2002, 37: 37—44.
- [21] Lyck S. Simultaneous changes in cell quotas of microcystin, chlorophyll a, protein and carbohydrate during different growth phases of a batch culture experiment with *Microcystis aeruginosa*. Journal of Plankton Research, 2004, 26: 727—736.
- [22] Smetacek V. A watery arms race. Nature, 2001, 411: 745.
- [23] Reynolds C S, Morison H R, Butterwick C. The sedimentary flux of phytoplankton in the south basin of Windemere. Limnology and Oceanography, 1982, 27: 1162—1175.
- [24] Pajdak-Stós A, Fialkowska E, Fyda J. *Phormidium autumnale* (Cyanobacteria) defense against three ciliate grazer species. Aquatic Microbial Ecology, 2001, 23: 237—244.
- [25] De Philippis R, Vincenzini M. Exocellular polysaccharides from cyanobacteria and their possible applications. FEMS Microbiology Reviews, 1998, 22: 151—175.
- [26] van Rijssel M, Janse I, Noordkamp D J B, et al. An inventory of factors that effect polysaccharide production by *Phaeocystis globosa*. Journal of Sea Research, 2000, 43: 297—306.
- [27] Thornton D O. Diatom aggregation in the sea: mechanisms and ecological implications. European Journal of Phycology, 2002, 37: 149—161.

参考文献:

- [17] 杨州,孔繁翔. 浮游动物诱发藻类群体的形成. 生态学报,2005,25(8): 2083 ~ 2089.