高前程, 黄力行, 徐 炜, 等. 细菌对引发赤潮相关藻类的杀藻作用研究综述[J]. 渔业研究, 2021, 43(4): 426-435.

细菌对引发赤潮相关藻类的杀藻作用研究综述

高前程^{1,2}, 黄力行^{1*}, 徐 炜², 陈逍遥⁴, 顾海峰^{2,3}, 骆祝华^{2,3}

- (1. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021;
2. 自然资源部第三海洋研究所, 福建 厦门 361005;
3. 南京信息工程大学, 江苏 南京 210044;
4. 福建省渔业资源监测中心, 福建 福州 350003)

摘要: 工业革命以来, 由于人类生产活动影响的急剧增加, 水生生态系统富营养化状况加剧, 与富营养化密切相关的赤潮在世界范围内频发, 其已然成为了一种全球性的海洋灾害问题。赤潮的发生会破坏海洋生态系统, 并且对水产养殖业构成极大的威胁。尽管目前已有物理和化学方法用于赤潮的治理, 但是其投入成本巨大, 且可能会对环境造成不利的影 响, 因此, 迫切需要寻找更有效的方法来预防赤潮的发生和减少赤潮带来的不利影响。研究发现, 某些细菌具有抑制藻类生长甚至杀死藻类的功能, 在防治赤潮方面表现出巨大的潜力。近年来, 越来越多具有杀藻功能的细菌被分离鉴定出来, 使得对其杀藻方式和作用机制也有了更深入的了解。现通过对杀藻细菌的分布、种类及杀藻作用机理进行梳理和总结, 展望杀藻细菌在防治赤潮领域未来的重点研究方向, 以期 为开发新的赤潮治理方法提供借鉴和帮 助。

关键词: 富营养化; 赤潮; 杀藻细菌; 作用机制

中图分类号: Q939.99 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-9848(2021)04-0426-10

由于世界人口的持续增长和生产生活废 水的排放, 农业肥料用量和化石能源需求 的增加, 陆源养分不断流失或以其他方式 进入到水生生态系统中, 使水体的营养 负荷正在发生变化。此外, 水利工程建设、气候变化也在以复杂的方式影响着水生生态系统养分的供应, 导致世界上许多河流、湖泊、河口和沿海水域等水生生态系统都出现了典型的富营养化症状^[1]。水体富营养化会加速藻类和高等植物的生长, 造成藻类总生物量增加和水质改变, 进而可能形成具有有害影

响的藻华^[2]。藻华分为淡水水华和海洋赤潮, 是一种水生生态系统异常现象, 其中由产毒藻引起的藻华被称为有毒藻华, 该藻华会危害海洋生态环境和人类健康。鉴于全球富营养化状况的加剧, 有学者认为全球赤潮问题正朝着更多地方出现、发生次数更加频繁、持续时间更长、毒性更强的轨道发展^[3]。

东海原甲藻 (*Prorocentrum donghaiense*)、米氏凯伦藻 (*Karenia mikimotoi*)、中肋骨条藻 (*Skeletonema costatum*)、塔玛亚历山大藻 (*Alex-*

收稿日期: 2021-01-20

基金项目: 自然资源部第三海洋研究所 2019 年基本科研业务费 (海三科 2019022); 中国-东盟海上合作基金“全球变化背景下南中国海近海生态系统监测与保护管理示范”; 中-德海洋科技合作项目“环境变化对热带中国滨海生态系统影响”。

作者简介: 高前程 (1996-), 男, 硕士研究生, 研究方向为水生动植物疫病防控. E-mail: 853480470@qq.com

通讯作者: 黄力行 (1986-), 男, 副教授, 主要从事水产病原微生物致病分子机理研究. E-mail: lixinghuang@outlook.com

andrium tamarense)、赤潮异湾藻 (*Heterosigma akashiwo*) 和球形棕囊藻 (*Phaeocystis globosa*) 等均是形成赤潮的常见物种。在我国海域, 东海原甲藻作为优势物种引发赤潮的次数最多且累计面积最大, 在 2019 年达到 12 次和 1 251 km²。有毒藻类会产生麻痹性贝毒、溶血毒素、神经毒素等有毒物质, 使生物中毒。除此之外, 还会引起水体低氧和缺氧^[4]。因此, 赤潮会对海洋生态系统和水产养殖业造成严重的影响。

赤潮是我国主要的海洋灾害之一, 往往一次赤潮暴发所造成的养殖渔业损失可高达数千万甚至上亿元。据中国海洋灾害公报报道, 2010 年至 2019 年间, 我国海域赤潮累计发现次数高达 544 次, 累计面积超过 53 668 km²^[5]。2005 年发生在长江口临近海域的米氏凯伦藻赤潮, 造成了大量养殖鱼类死亡, 直接经济损失达 3 000 × 10⁴ 元^[6]。2012 年发生于我国浙江及福建海域的米氏凯伦藻赤潮更是造成了超 20 亿元的经济损失^[7]。赤潮的暴发还会对人类的健康产生巨大的威胁, 这是因此赤潮暴发时, 贝类通过滤食有毒藻类, 使毒素在体内累积并转化为贝类毒素, 当人类食用这些贝类时这种毒素会在人体内释放, 使人体出现中毒症状, 严重危害人类生命健康。其中麻痹性贝类毒素是分布最广、事故发生率最高、危害程度最大的一种贝类毒素, 每年由麻痹性贝类毒素引起的中毒约占贝类毒素事件的 87%^[8]。2017 年我国发生赤潮 68 次, 福建省暴发的链状裸甲藻 (*Gymnodinium catenatum*) 赤潮还造成了严重的麻痹性贝毒中毒事件, 多人在食用贝类产品后出现中毒情况^[9]。2019 年单次赤潮发生面积最大和持续时间最长的为同一次赤潮, 发生在温州南麂列

岛至北麂列岛至洞头列岛以东海域, 最大面积为 800 km², 持续时间为 34 d (表 1)。近年来数据显示, 赤潮的发生具有规模巨大、持续时间长、造成的环境影响和经济损失巨大的特点。因此, 寻求更有效的赤潮治理方法迫在眉睫。

目前, 已有多种技术被应用于赤潮的治理, 但以物理方法和化学方法为主^[10-12]。在水中散播黏土是一种较为有效的物理方法, 主要是通过黏土的黏附作用, 达到去除水体中藻类的目的^[13]。但大量使用黏土需要耗费较多的人力和物质资源, 悬浮于海水或沉积于海底的黏土还会对水体和底栖生物的生存造成影响。化学方法主要是使用除藻剂破坏藻类正常代谢来杀死藻细胞, 但因海水稀释和扩散较快而很难达到有效浓度, 目前这一方法主要停留在实验室研究的初级阶段。另一方面使用化学方法还易造成环境污染, 如硫酸铜制剂的使用会加速藻毒素的释放, 高浓度的铜离子还会造成水体重金属污染, 导致浮游植物及水生动物的死亡^[14]。而微生物具有分布广泛、种类多、繁殖速度快及环境友好等特点, 在赤潮防治方面具有巨大潜力。许多生物方法, 包括细菌、真菌、病毒、大型海藻、浮游动物和滤食性贝类, 在已有的研究中都对赤潮起到明显的治理效果^[15]。但以往的研究表明, 海洋中藻类和细菌联系紧密, 它们之间具有错综复杂的相互关系, 如互利共生、敌对拮抗或者竞争抑制等, 这种复杂的菌藻关系在赤潮的消长过程中发挥着重要的作用^[16]。因此, 利用海洋杀藻细菌来控制赤潮似乎是一种良好的治理方法。

表 1 2010 年至 2019 年我国单次发生面积最大的赤潮

Tab. 1 The largest single red tide occurred in China from 2010 to 2019

年份 Year	赤潮发生区域 Red tide occurrence area	种类 Species	面积/km ² Area	时间/d Time
2010	辽宁省绥中至河北省秦皇岛沿岸海域	-	3 350	19
2011	鸭绿江口至长海县东北海域	夜光藻	4 000	22
2012	舟山嵊泗海域	米氏凯伦藻	240	4
2013	秦皇岛至绥中附近海域	抑食金球藻	1 450	98
2014	河北秦皇岛附近海域	抑食金球藻	2 000	85
2015	辽宁绥中至滦河口海域	抑食金球藻	825	90
2016	长江口海域	中肋骨条藻	2 000	6
2017	广东茂名水东湾附近海域	球形棕囊藻	495	19
2018	浙江渔山列岛至檀头山海域	东海原甲藻	210	11
2019	温州南麂列岛至北麂列岛至洞头列岛海域	东海原甲藻	800	34

注:“-”表示多种藻类。

Note:“-”indicated multiple algae.

1 杀藻细菌的分布

目前已从多种环境中分离出对藻类具有抑制作用的细菌,它们在赤潮的消亡过程中起着重要的作用。如从富营养化湖泊的沉积物中分离到一株对有毒铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 具有高溶藻活性的好氧反硝化细菌 R11,经鉴定该菌为拉乌尔菌属 (*Raoultella*),研究发现其溶藻活性随细菌细胞浓度的增加而增加,当细菌培养浓度超过 2.4×10^5 cell/mL 时,在 4 d 内其可获得高达 80% 的溶藻活性^[17]。在海洋环境中也分离到多种具有溶藻活性的细菌,在阿里克海分离到一株对中肋骨条藻表现出抑藻活性的假交替单胞菌 (*Pseudoalteromonas*) 菌株 A28,并且实验结果表明菌株 A28 产生的溶藻物质为丝氨酸蛋白酶^[18];从中国东海 26 m 处的海底沉积物中分离出一株与海旋菌属 (*Thalassospira* sp.) 物种高度同源的海洋细菌 ZR-2,其分泌的胞外活性物质可加速米氏凯伦藻的分解,经鉴定该物质为苯甲酸^[19]。在浙江沿海赤潮多发区中分离到一株盐单胞菌属 (*Halomonas* sp.) 菌株 DH-e,其分泌物可以加快东海原甲藻中叶绿素 a 的分解,从而导致细胞中总糖含量减少,进一步造成细胞膜结构损伤,最后通过影响藻细胞正常生理功能,从而达到抑制藻细胞生长^[20]。从土壤中也分离到可以使藻类聚集并破坏细胞膜结构、从而使藻类死亡的缺陷短波单胞菌属 (*Brevundimonas diminuta*) 菌株 AA06^[21]。此外,也有极少数杀藻细菌分离自藻细胞内部。如东海原甲藻藻细胞内分离出对寄主具有杀藻活性的红杆菌科 (*Rhodobacteriaceae*) 菌株 PD-2^[22]。总得来说,杀藻细菌的来源非常丰富,广泛分布在各种环境中,其对维持水体生态的平衡具有重要作用。

2 杀藻细菌的多样性

目前,众多不同种属的杀藻细菌已被分离鉴定出来,它们通过不同的方式对藻类细胞产生作用,如改变藻细胞结构和生理状态、调控藻细胞内相关基因的表达,从而抑制或杀死藻细胞。常规的方法是从赤潮暴发的环境中分离出杀藻细菌,并通过形态学观察、DNA 条形码测序等方式进行种类鉴定^[23-24]。发现的杀藻细菌主要来

源于变形菌门 (Proteobacteria),其中在 γ 变形菌纲 (Gammaproteobacteria) 分布较多,包括交替单胞菌属 (*Alteromonas* spp.)、假交替单胞菌属 (*Pseudoalteromonas* spp.) 和弧菌属 (*Vibrio* spp.) 等。CFB 菌群 (噬细胞菌-黄杆菌-拟杆菌, *Cytophaga-Flavobacteria-Bacteroides*) 也是包含多种杀藻细菌的菌群,这与一些研究者发现的在污染程度较高的地方微生物群落以 γ 变形菌纲、拟杆菌属 (*Bacteroides* spp.) 和厚壁菌属 (*Firmicutes* spp.) 等为主是相符的^[25-26]。此外,还有少部分革兰氏阳性菌如芽孢杆菌属 (*Bacillus* spp.) 也有杀藻活性。

杀藻菌的杀藻作用通常具有特异性,通俗的说就是某些菌株只对特定种类的藻类具有杀藻作用,而对其他种群的藻则没有杀藻作用或者杀藻作用较弱。Arite B 等发现在单一培养条件下,双突角毛藻 (*Chaetoceros didymus*) 的生长几乎不受柯氏菌的影响,而中肋骨条藻藻细胞在几小时内就会被裂解。但是如果这两种硅藻混合培养再被柯氏菌感染,双突角毛藻的生长就会受到抑制^[27]。在另一项研究中, Jenelle C R D 等从菲律宾博利瑙 (Bolinao)、索索贡 (Sorsogon) 和马塔里诺 (Matarinao) 等三个暴发赤潮的区域分离出了多种杀藻细菌,这些杀藻菌均显示出对巴哈马麦藻 (*Pyrodinium bahamense*) 不同程度的杀藻活性,即使该藻在此区域是不存在的^[28]。除了具有特异性之外,还有一些杀藻细菌对多种藻类均具有杀藻活性。有研究发现副球菌 (*Paracoccus* sp.) 菌株 Y42 对东海原甲藻、塔玛亚历山大藻、锥状斯克里普藻 (*Scrippsiella trochoidea*) 等甲藻、中肋骨条藻等硅藻都具有良好的杀藻效果^[29]。具有杀藻功能的细菌种类较多,且已有多种细菌被证实对可以形成赤潮的藻类具有显著杀藻作用 (表 2)。

3 杀藻细菌的杀藻机制

细菌的杀藻作用是通过直接或间接的方式作用于藻细胞,影响藻细胞的结构和生理功能,促进或者抑制相关基因或蛋白的表达,进而抑制藻类生长甚至杀死藻类。因此细菌的杀藻机制可以分为直接杀藻和间接杀藻 (表 3)。

3.1 直接杀藻

直接杀藻是细菌通过直接攻击藻细胞来抑制藻类生长或杀死藻类,其关键是要与藻细胞发生直接接触。这类细菌表面通常具有鞭毛和菌毛等特殊的细胞结构,可以帮助细菌向藻细胞移动,甚至进入藻细胞内部,有些细菌直接与藻细胞接触时,会释放酶类物质破坏藻细胞壁,从而逐渐溶解藻细胞。如几丁质酶产生的菌 LY03 对硅藻具有趋化性,会依靠鞭毛作用附着在藻细胞上,再通过分泌几丁质酶溶解藻细胞壁,最终导致藻细胞死亡^[30];在另一项研究中,研究者从铜绿微囊藻中分离到一株蛭弧菌 (*Bdellovibrio*), 并发现该菌可以借助一种多糖蛋白质复合物侵入到藻细胞的细胞壁和细胞质膜之间,造成细胞壁破裂,从而溶解细胞^[31]。海杆菌 (*Marinobacter*) 菌株 YWL01 可以通过鞭毛进入中肋骨条藻细胞内部,进而裂解藻细胞^[32]。

此外,CFB 菌群中的大部分细菌可以通过直接接触来实现杀藻作用。如研究者从有明海沿岸赤潮水域中分离到一株对中肋骨条藻具有较强杀藻活性的噬细胞菌菌株 A5Y, 在研究中发现该菌的细菌培养物对中肋骨条藻有杀藻作用,而无菌滤液无杀藻作用,且通过显微镜观察到细菌细胞通过一杆状结构附着在藻细胞^[33],表明这种细胞接触可能在细菌的杀藻作用中起着重要作用。此外,还有研究者发现腐螺旋菌菌株 SS98-5 可以通过一种管状结构主动靠近角毛藻 (*Chaetoceros ceratossporum*), 并且侵入藻细胞内部,进而发挥杀藻作用^[34]。

3.2 间接杀藻

间接杀藻是细菌不与藻细胞发生直接接触,而是通过间接的方式来抑制或者杀死藻类的一种机制。以间接方式实现杀藻作用的细菌主要包括弧菌、黄杆菌、芽孢杆菌、交替单胞菌、假交替单胞菌等。间接杀藻可以分为两种:一种是细菌通过与藻竞争碳、氮、磷、钾等营养物质,从而达到抑制藻类生长效果;另一种是通过分泌活性物质抑制藻类生长或直接杀死藻类。

众所周知,环境中的营养成分是有限的,细菌生长繁殖会消耗环境中大量营养物质,从而使藻类的生长受到明显抑制。磷是藻类的生长繁殖所必需的营养元素之一,也是大多数代谢结构和功能所必需的元素,海洋中的磷主要以溶解性无

机磷 (Dissolved inorganic phosphorus, DIP) 和溶解性有机磷 (Dissolved organic phosphorus, DOP) 两种形式存在,水生系统中 DIP 因含量较低而通常是浮游植物生长的第一个限制因素^[35]。有研究发现一些细菌对磷酸盐的利用效率远远高于藻类,如芽孢杆菌利用微囊藻的代谢物进行生长和增殖会大量消耗水体中的氮、磷,从而使藻类生长被抑制^[36]。翟建宏等研究发现氮磷比可以调节芽孢杆菌与微囊藻 (*Microcystis*) 之间的动态关系,当氮磷比升高,芽孢杆菌的生长比微囊藻更具优势^[37]。还有研究发现,具有反硝化作用的细菌也具有较高的杀藻活性。如用 10% 不动杆菌 J25 的细菌培养物感染水体中的铜绿微囊藻 24 h 后,硝酸盐和叶绿素 a 的去除率分别达到 100% 和 87.86%^[38]。因此,当细菌与藻类之间存在营养竞争的关系时,细菌对营养物质的利用率将影响藻类的生长。

细菌不仅可以通过与藻类之间竞争营养来抑制藻类生长,还可通过向环境中分泌某种胞外活性物质来抑制或杀死藻类。这些杀藻活性物质主要包括抗生素、色素、酶、蛋白质、多肽、氨基酸及小分子化合物,以及其他化合物^[39]。如芽孢杆菌菌株 B1 对球形棕囊藻、中肋骨条藻、赤潮异湾藻、东海原甲藻 4 种门类的微藻均具有杀藻作用,研究发现其可以分泌 L-组氨酸、O-酪氨酸、N-乙酰组胺和尿酸 4 种物质^[40]。还有研究发现 0.28 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 链霉素可以降低铜绿微囊藻藻细胞叶绿素 a 含量,并且抑制光合作用相关基因的表达,对铜绿微囊藻具有很好的杀藻作用^[41]。有的细菌还可以分泌具有杀藻活性的脂肪酸,弧菌 BS02 能够分泌棕榈油酸 ($\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_2$), 在该物质浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,其就对塔玛亚历山大藻具有显著的杀藻活性^[42]。弧菌在持续共培养条件下可产生一种对血红哈卡藻 (*Akashiwo sanguinea*) 具有杀藻活性的物质,经鉴定该物质为六氢吡咯并 [1, 2-a] 吡嗪-1, 4-二酮^[43]。河氏菌 (*Hahella*) 菌株 KA22 通过分泌灵菌红素杀死球形棕囊藻,首次为该色素的杀藻机理提供了依据^[44]。此外有些细菌分泌的杀藻物质还具有较强的环境稳定性,如芽孢杆菌菌株 HSY-03 能够分泌一种对赤潮异湾藻具有杀藻活性,并且具有较强的耐酸碱性和热稳

定性和抗紫外能力的胞外活性物质^[45]。因此,分泌杀藻活性物质是细菌实现杀藻作用的有效途径,一些杀藻细菌凭借其杀藻活性物质具有适应复杂环境的理化性质,使其在控制赤潮领域具有较强的应用潜力。

除上述之外,还有些细菌是通过直接杀藻与间接杀藻相结合的方式杀死藻类。如假交替单胞菌 S1 的无菌滤液和菌体对血红哈卡藻均具有

杀藻效果,说明该菌不仅具备直接杀藻的能力,还可以分泌杀藻活性物质来杀死藻细胞^[46]。洪桂云等从富营养化水体中分离出一株沙雷氏菌属(*Serratia* sp.) 菌株 WJ6,研究发现其细菌悬液和无菌滤液对铜绿微囊藻均具有杀藻作用,但无菌滤液具有更好的杀藻效果,因此判断该菌的杀藻方式是以间接杀藻为主、以直接杀藻为辅^[47]。

表 2 杀藻细菌的分类和来源

Tab. 2 Classification and sources of algicidal bacteria

门 Phylum	种属 Genus	作用藻类 Target algae	分离环境 Separated environment	参考文献 Reference
变形菌门 Proteobacteria	拉乌尔菌属	铜绿微囊藻	湖泊沉积物	[17]
	假交替单胞菌属	中肋骨条藻	阿里克海	[18]
	海旋菌属	米氏凯轮藻	海底沉积物	[19]
	盐单胞菌属	东海原甲藻	赤潮多发区	[20]
	短波单胞菌属	铜绿微囊藻	土壤	[21]
	红杆菌属	东海原甲藻	藻细胞内部	[22]
	黄杆菌属	中肋骨条藻	-	[27]
拟杆菌门 Bacteroidetes	海杆菌属	中肋骨条藻	-	[33]
	噬细胞菌属	中肋骨条藻	赤潮水域	[34]
	腐螺旋菌属	角毛藻	日本鹿儿岛湾	[35]
厚壁菌门 Firmicutes	芽孢杆菌属	微囊藻	富营养水体	[37]
	芽孢杆菌属	球形棕囊藻	-	[40]
	芽孢杆菌属	赤潮异湾藻	红树林沉积物	[45]

注:“-”表示未知环境。

Note:“-”indicated unknown environment.

表 3 杀藻细菌的作用藻类及其杀藻作用机制

Tab. 3 Target algae of algicidal bacteria and their mechanism of action

杀藻细菌 Algicidal bacteria	作用藻类 Target algae	杀藻机制 Algicidal mechanism	杀藻物质 Algicidal substance	参考文献 Reference
<i>Thalassospira</i> sp. ZR-2	米氏凯轮藻	间接杀藻	苯甲酸	[19]
<i>Halomonas</i> sp. DH-e	东海原甲藻	间接杀藻	-	[20]
<i>Chitinimonas prasina</i> LY03	伪矮海链藻	直接杀藻	几丁质酶	[30]
<i>Bdellovibrio</i> sp.	铜绿微囊藻	直接杀藻	-	[31]
<i>Marinobacter</i> sp. YWL01	中肋骨条藻	直接杀藻	-	[32]
<i>Cytophaga</i> sp. A5Y	中肋骨条藻	直接杀藻	-	[33]
<i>Bacillus</i> sp.	铜绿微囊藻	间接杀藻	-	[37]
<i>Acinetobacter</i> sp. J25	铜绿微囊藻	间接杀藻	-	[38]

续表3

杀藻细菌	作用藻类	杀藻机制	杀藻物质	参考文献
Algicidal bacteria	Target algae	Algicidal mechanism	Algicidal substance	Reference
<i>Vibrio</i> sp. BS02	塔玛亚历山大藻	间接杀藻	棕榈油酸(C ₁₆ H ₃₀ O ₂)	[42]
<i>Hahella</i> sp. KA22	球形棕囊藻	间接杀藻	灵菌红素	[44]
<i>Bacillus</i> sp. HSY-03	赤潮异湾藻	间接杀藻	-	[45]
<i>Pseudoalteromonas</i> sp. S1	血红哈卡藻	协同杀藻	-	[46]
<i>Serratia</i> sp. WJ6	铜绿微囊藻	协同杀藻	-	[47]

注:“-”表示未知杀藻物质。

Note:“-”indicated unknown algicidal substances.

4 杀藻细菌对藻细胞的影响

4.1 细胞水平的杀藻机制

大多数杀藻细菌在杀藻过程中会对藻细胞的形态结构造成破坏,主要表现为破坏细胞膜和细胞核的完整性,亦或是造成叶绿体、类囊体和线粒体等细胞器的形态变化。细胞的完整性是维持细胞正常生理活动的基础,在维持细胞内环境稳定上起着重要的作用。Lu X 等从东海获得的一株海旋菌 ZR-2 可通过分泌苯甲酸,促进米氏凯伦藻细胞的分解,并诱导细胞内容物质渗出,最终导致藻细胞裂解死亡^[19]。Hou S 等在研究一株海洋芽孢杆菌菌株 B1 对球形棕囊藻、中肋骨条藻、赤潮异湾藻、东海原甲藻等 4 种有害藻类的作用机制时,使用场发射扫描电子显微镜(FESEM)观察发现,与正常的细胞相比,在加入体积比为 1% 的 B1 上清液处理 3 d 后,4 种藻类细胞在形态上均表现出不同程度的损伤,其中中肋骨条藻藻细胞与邻细胞之间由刺相连组成的链发生断裂,赤潮异湾藻、球形棕囊藻和东海原甲藻的细胞表面出现融化和扭曲现象^[40]。韩光耀等从浙江沿海赤潮多发区分离到一株具有杀藻作用的盐单胞菌属菌株 DH-e,研究发现该菌株的代谢产物能够破坏东海原甲藻的细胞膜完整性,在无菌滤液处理 12 h 后,细胞发生脱壳现象,处理 36 h 后,藻细胞发生变形破裂,内容物大量流出^[20]。

叶绿体是浮游植物细胞进行光合作用的场所,叶绿体损伤将直接导致藻细胞光合系统受到抑制,使藻类无法正常生长。叶绿素 a 的含量在一定程度上代表了光合作用的能力,因此可以通

过测量叶绿素 a 的含量变化来研究细菌对藻类的杀藻作用。如在河氏菌 KA22 可以分泌对球形棕囊藻具有杀藻作用的灵菌红素,经 5 μg/mL 灵菌红素处理 2 h 后,藻细胞叶绿素 a 含量和有效光量子产量 F_v/F_m 值开始下降,表明光合系统受到抑制,且通过扫描电镜和透射电镜观察到藻细胞叶绿体和细胞核发生破裂,鞭毛缺失^[44]。吴寒华等在研究海杆菌菌株 YWL01 对中肋骨条藻的杀藻活性时,发现在用菌液和菌细胞悬液感染中肋骨条藻后,其藻细胞叶绿素 a 浓度显著下降,而用无菌滤液接种藻细胞后,其叶绿素 a 含量却没有变化,表明了该菌具有直接杀藻活性,且可以影响藻类的光合作用^[32]。

4.2 生理水平的杀藻机制

在杀藻过程中,除了藻细胞结构会发生变化以外,细胞的生理生化反应也会发生变化。活性氧(ROS)是细胞内一类氧的单电子还原产物,在细胞生长、增殖、发育分化、衰老和凋亡等生理过程中发挥着重要作用。正常情况下细胞内的 ROS 的产生与清除处于一种动态平衡,但是当细胞受到外界或自身代谢产生的各种有害刺激时,胞内活性氧自由基(ROS)的含量会增多,导致氧化与非氧化失衡,从而造成藻细胞受到损伤甚至死亡。弧菌菌株 BS02 上清液可以影响塔玛亚历山大藻的光合作用过程,并阻断 PS II 的电子传递链,导致过量 ROS 的产生。增加的活性氧会进一步破坏细胞膜的完整性,并导致叶绿素 a 和类胡萝卜素的水平显著降低,最终导致藻细胞死亡^[48]。

此外,藻细胞中过量的 ROS 也会胁迫抗氧化系统中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶

(CAT)、过氧化物酶(POD)等酶活性的变化。吴培枫等在探究盐单胞菌菌株DH-e 无菌滤液对东海原甲藻的作用机制时,发现随着无菌滤液浓度的增加,藻细胞内ROS的含量迅速升高,藻细胞内SOD和CAT活性也显著升高^[49],这表明杀藻活性物质会刺激藻细胞并使其处于氧化应激状态,从而启动抗氧化系统来清除过量的ROS。

4.3 分子水平的杀藻机制

相比于细胞和生理水平的研究,在分子水平对杀藻机制的研究相对落后,且主要研究集中在藻类细胞光合基因的表达,在藻类光合基因中 $psbA$ 和 $psbD$ 基因分别编码光系统的两个核心蛋白D1和D2, $rcbS$ 和 $rbcl$ 是与 CO_2 固定有关的基因, cob 是细胞色素b相关基因, cox 是细胞色素氧化酶合成基因,它们的表达通常被用来判断光合作用是否受到影响。有研究发现在被具有杀藻作用的细菌感染后,藻细胞中光合基因的表达会受到抑制,Hou S等用2%芽孢杆菌菌株B1上清液处理96 h后,赤潮异湾藻、中肋骨条藻、球形棕囊藻藻细胞中的 $psbA$ 、 $psbD$ 、 $rbcl$ 三种光合基因的表达较对照组均显著降低^[40],这表明细菌似乎可以通过抑制光合基因的表达来杀死藻细胞。Lei X等将塔玛亚历山大藻暴露在菌株BS02上清液后,检测两个光合相关基因($psbA$ 和 $psbD$)和两个呼吸相关基因(cob 和 cox)转录丰度的变化,发现上清液暴露处理会显著抑制其呼吸相关基因的转录^[48]。

现阶段对细菌的杀藻活性基因研究较少,但也有少数研究者发现某些细菌的基因组中包含许多与杀藻相关的基因。吴寒华等通过全基因组测序分析发现,对中肋骨条藻具有直接杀藻活性的海杆菌菌株YWL01基因组中含有可编码鞭毛蛋白的相关基因簇,并且存在可编码蛋白质LuxR同系物、溶血素同系物、RTX毒素同系物和外膜蛋白TolC的基因^[32]。并且在其他研究中也已有结果表明,LuxR是一种参与调控细菌杀藻过程的信号分子^[50];溶血素和RTX毒素与细菌的毒力和裂解藻细胞的能力相关^[51]。外膜蛋白TolC在细菌侵染藻细胞、溶解藻细胞膜等过程具有关键作用^[52],这可能与细菌的直接杀藻活性有关。因此探究参与细菌杀藻过程的相关基因,对于深

入了解细菌的杀藻机制具有重要意义。

5 结论与展望

受近岸海水富营养化的影响,赤潮在世界范围内频发且危害巨大,应用细菌防治赤潮是一个充满前景的方向。现阶段对杀藻细菌的研究仍处于实验室模拟阶段,尚未被大规模应用于赤潮暴发的水域。目前已经分离鉴定出多株杀藻细菌,并对杀藻机制进行了较为深入的研究。细菌杀藻机制主要分为直接杀藻和间接杀藻。直接杀藻是指杀藻细菌通过直接接触的方式攻击藻细胞,间接杀藻则主要由杀藻细菌通过分泌杀藻活性物质来影响藻类生长或杀死藻类。在自然界中杀藻细菌分布广泛、种类繁多,有些细菌还能产生具有杀藻活性的物质。在细胞水平,杀藻物质主要通过破坏细胞结构的方式抑制藻细胞;在生理水平,杀藻物质会引起藻细胞产生不同程度的氧化应激,当胞内产生的过量活性氧自由基得不到及时清理时,活性氧自由基就会引发含有膜结构的细胞器发生脂质过氧化,并通过引发一定的级联反应促使藻细胞凋亡;在分子水平,杀藻物质主要通过抑制光合作用相关基因从而导致藻细胞死亡。目前对于杀藻物质的规模化生产及分离纯化方法研究还不够深入,需要进一步探索;对于杀藻机制的研究主要集中在细胞及生理水平,由于组学研究起步较晚,大部分藻类和杀藻细菌组学信息缺乏,分子水平研究较少。因此有害藻类及杀藻细菌遗传信息解析、杀藻毒力基因发掘、杀藻物质作用机制应该成为下一步研究的方向,在此基础上,为了能够尽早将杀藻细菌应用于赤潮的治理上,未来应当逐步将研究条件由实验室环境转为自然环境,并从成本、效果、潜在风险等多个方面对杀藻细菌和杀藻物质是否能够应用于赤潮治理进行评估和评价,以探索发现无危害、成本小、效果好并且可以规模化生产应用于实际的杀藻细菌和杀藻物质为最终目的。

参考文献:

- [1] GLIBERT P M. Eutrophication, harmful algae and biodiversity - Challenging paradigms in a world of complex nutrient changes[J]. Marine Pollution Bulletin, 2017, 124(2): 591-606.

- [2] NIXON S W. Coastal marine eutrophication: A definition, social causes, and future concerns [J]. *Ophelia*, 1995, 41(1): 199–219.
- [3] GLIBERT P M, BURFORD M A. Globally changing nutrient loads and harmful algal blooms: Recent advances, new paradigms, and continuing challenges [J]. *Oceanography*, 2017, 30(1): 58–69.
- [4] 林森杰, 姬南京, 罗昊. 海洋有害藻华研究进展 [J]. *海洋与湖沼*, 2019, 50(3): 495–510.
- [5] 自然资源部. 中国海洋灾害公报 [R]. 北京: 自然资源部, 2019.
- [6] 于仁成, 刘东艳. 我国近海藻华灾害现状、演变趋势与应对策略 [J]. *中国科学院院刊*, 2016, 31(10): 1167–1174.
- [7] 陈宝红, 谢尔艺, 高亚辉, 等. 米氏凯伦藻对海洋生物致毒作用的研究进展 [J]. *福建水产*, 2015, 37(3): 241–249.
- [8] 杨云辉. HPLC-MS/MS 法检测福建中部海域养殖贝类麻痹性贝类毒素 [J]. *渔业研究*, 2020, 42(5): 473–480.
- [9] 郑宁宁, 孙丽, 丁宁, 等. 有害微藻抑藻细菌多样性及抑藻机制研究进展 [J]. *微生物学通报*, 2019, 46(5): 1204–1219.
- [10] PARK J, CHURCH J, SON Y, et al. Recent advances in ultrasonic treatment: challenges and field applications for controlling harmful algal blooms (HABs) [J]. *Ultrasonics – Sonochemistry*, 2017, 38(9): 326–334.
- [11] 林洪, 苏玉萍, BALAJI P B, 等. 新型锁磷剂组合混凝剂调控富营养化水体沉积物研究 [J]. *渔业研究*, 2021, 43(1): 13–20.
- [12] 黄永强, 游小艇, 杨铭. 氢氧化镁对水质、底质改良的研究与应用 [J]. *渔业研究*, 2017, 39(2): 139–146.
- [13] 王志富, 俞志明, 宋秀贤, 等. 改性粘土治理有害藻华方法对虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 稚贝的影响 [J]. *海洋环境科学*, 2014, 33(6): 817–821.
- [14] 孙霄. 化学除藻过程中微囊藻毒素 (MC-LR) 的产生与去除特性研究 [D]. 天津: 天津大学, 2016.
- [15] 龚良玉, 李雁宾, 祝陈坚, 等. 生物法治理赤潮的研究进展 [J]. *海洋环境科学*, 2010, 29(1): 152–158.
- [16] 张增虎, 唐丽丽, 张永雨. 海洋中藻菌相互关系及其生态功能 [J]. *微生物学通报*, 2018, 45(9): 2043–2053.
- [17] SU J, SHAO S, HUANG T, et al. Isolation, identification, and algicidal activity of aerobic denitrifying bacterium R11 and its effect on *Microcystis aeruginosa* [J]. *Water Science and Technology*, 2016, 73(11): 2600–2607.
- [18] LEE S O, KATO J, TAKIGUCHI N, et al. Involvement of an extracellular protease in algicidal activity of the marine bacterium *Pseudoalteromonas* sp. strain A28 [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(10): 4334–4339.
- [19] LU X, ZHOU B, XU L, et al. A marine algicidal *Thalassospira* and its active substance against the harmful algal bloom species *Karenia mikimotoi* [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(11): 5131–5139.
- [20] 韩光耀, 谢丽玲, 毕潇, 等. 溶藻细菌 DH-e 代谢产物对东海原甲藻的抑制作用 [J]. *应用海洋学学报*, 2017, 36(2): 151–157.
- [21] 樊乾龙. 溶解铜绿微囊藻的细菌筛选及溶藻效果的研究 [D]. 北京: 北京林业大学, 2016.
- [22] ZHENG L, CUI Z, XU L, et al. Draft genome sequence of Rhodobacteraceae strain PD-2, an algicidal bacterium with a quorum-sensing system, isolated from the marine microalga *Prorocentrum donghaiense* [J]. *Genome Announcements*, 2015, 3(1): e01549–14.
- [23] 薛静静, 王美娟, 毛林强, 等. 一株具有溶藻功能的 *Paenibacillus* sp. XXG 的分离鉴定及溶藻特性研究 [J]. *过程工程学报*, 2020, 20(9): 1097–1105.
- [24] 朱晓漫, 罗玉双, 李娜, 等. 一株溶藻细菌的分离、筛选与分子鉴定 [J]. *湖南文理学院学报 (自然科学版)*, 2017, 29(1): 28–34.
- [25] VIEIRA R P, GONZALEZ A M, CARDOSO A M, et al. Relationships between bacterial diversity and environmental variables in a tropical marine environment, Rio de Janeiro [J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 10(1): 189–199.
- [26] GREGORACCI G B, NASCIMENTO J R, CABRAL A S, et al. Structuring of bacterioplankton diversity in a large tropical bay [J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e31408.
- [27] ARITE B, GEORG P. Algicidal bacteria trigger contrasting responses in model diatom communities of different composition [J]. *MicrobiologyOpen*, 2019, 8(8): e00818.
- [28] JENELLE C R D, FRENCHLY J O C, FRANCIS A T,

- et al. Algicidal potential of cultivable bacteria from pelagic waters against the toxic dinoflagellate *Pyrodinium bahamense* (Dinophyceae) [J]. Journal of Applied Phycology, 2019, 31 (6) : 3721 - 3735.
- [29] ZHANG F, YE Q, CHEN Q, et al. Algicidal activity of novel marine bacterium *Paracoccus* sp. strain Y42 against a harmful algal - bloom - causing dinoflagellate, *Prorocentrum donghaiense* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2018, 84 (19) : 1015 - 1018.
- [30] LI Y, LEI X, ZHU H, et al. Chitinase producing bacteria with direct algicidal activity on marine diatoms [J]. Scientific Reports, 2016, (6) : 21984.
- [31] CAIOLA M G, PELLEGRINI S. Lysis of *Microcystis aeruginosa* (KÜTZ.) by *Bdellovibrio* - Like bacteria 1 [J]. Journal of Phycology, 2004, 20 (4) : 471 - 475.
- [32] 吴寒华, 李登峰, 严小军, 等. 一株海杆菌的溶藻活性及基于基因组的溶藻机理分析 [J]. 宁波大学学报 (理工版), 2017, 30 (1) : 23 - 28.
- [33] MITSUTANI A, TAKESUE K, KIRITA M, et al. Lysis of *Skeletonema costatum* by *Cytophaga* sp. isolated from the coastal water of the Ariake Sea [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1992, 58 (11) : 2159 - 2167.
- [34] GOU FURUSAWA T Y A Y. Algicidal activity and gliding motility of *Saprospira* sp. SS98 - 5 [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2003, 49 (2) : 92.
- [35] 肖宇梅, 徐雯钦, 苏玉萍, 等. 东海原甲藻 (*Prorocentrum donghaiense*) 利用有机磷增殖研究 [J]. 渔业研究, 2019, 41 (4) : 278 - 283.
- [36] MATS J. Phosphate uptake and utilization by bacteria and algae [J]. Hydrobiologia, 1988, 170 (1) : 177 - 189.
- [37] 瞿建宏, 刘韶斌. 水体中芽孢杆菌和微囊藻的生长及其资源竞争 [J]. 湛江海洋大学学报, 2002, (3) : 13 - 18.
- [38] SU J F, MA M, WEI L, et al. Algicidal and denitrification characterization of *Acinetobacter* sp. J25 against *Microcystis aeruginosa* and microbial community in eutrophic landscape water [J]. Marine Pollution Bulletin, 2016, 107 (1) : 233 - 239.
- [39] 焦彦凯, 严小军, 李小兵. 溶藻细菌及溶藻化合物研究进展 [J]. 工业微生物, 2018, 48 (4) : 56 - 62.
- [40] HOU S, SHU W, TAN S, et al. Exploration of the antioxidant system and photosynthetic system of a marine algicidal *Bacillus* and its effect on four harmful algal bloom species [J]. Canadian Journal of Microbiology, 2016, 62 (1) : 49 - 59.
- [41] QIAN H F, LI J J, PAN X J, et al. Effects of streptomycin on growth of algae *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa* [J]. Environmental Toxicology, 2012, 27 (4) : 229 - 237.
- [42] 李东. 海洋溶藻弧菌 BS02 及其活性物质作用机理的研究 [D]. 厦门: 华侨大学, 2013.
- [43] WANG Y, LI S, LIU G, et al. Continuous production of algicidal compounds against *Akashiwo sanguinea* via a *Vibrio* sp. co - culture [J]. Bioresource Technology, 2020, 295 : 122246.
- [44] ZHANG H, WANG H, ZHENG W, et al. Toxic effects of prodigiosin secreted by *Hahella* sp. KA22 on harmful alga *Phaeocystis globosa* [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, (8) : 999.
- [45] 傅丽君, 林天城, 余晓琪, 等. 抑藻细菌 HSY - 03 的分离、鉴定及对赤潮异弯藻生长的影响 [J]. 热带海洋学报, 2016, 35 (3) : 87 - 93.
- [46] SUN H Y, ZHANG Y, CHEN H R, et al. Isolation and characterization of the marine algicidal bacterium *Pseudoalteromonas* S1 against the harmful alga *Akashiwo sanguinea* [J]. Marine Biology, 2016, 163 (3) : 1 - 8.
- [47] 洪桂云, 马少雄, 王佳, 等. 高效铜绿微囊藻溶藻菌 WJ6 的分离鉴定及溶藻特性 [J]. 中国环境科学, 2018, 38 (11) : 4269 - 4275.
- [48] LEI X, LI D, LI Y, et al. Comprehensive insights into the response of *Alexandrium tamarense* to algicidal component secreted by a marine bacterium [J]. Frontiers in Microbiology, 2015, (6) : 7.
- [49] 吴培枫, 韩光耀, 谢丽玲, 等. 溶藻菌 *Halomona* sp. DH - e 无菌滤液对东海原甲藻抗氧化系统的影响及急性毒性检验 [J]. 海洋环境科学, 2018, 37 (2) : 228 - 232.
- [50] NAKASHIMA T, MIYAZAKI Y, MATSUYAMA Y, et al. Producing mechanism of an algicidal compound against red tide phytoplankton in a marine bacterium gamma - proteobacterium [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, 73 (3) : 684 - 690.
- [51] JEONG H. Genomic blueprint of *Hahella chejuensis*, a marine microbe producing an algicidal agent [J]. Nucleic acids research, 2005, 33 (22) : 7066 - 7073.
- [52] GERMAN G J, MISRA R. The TolC protein of *Escherichia coli* serves as a cell - surface receptor for the newly characterized TLS bacteriophage [J]. Journal of Molecular Biology, 2001, 308 (4) : 579 - 585.

Review on the algicidal effect of bacteria on red tide related algae

GAO Qiancheng^{1,2}, HUANG Lixing^{1*}, XU Wei²,
CHEN Xiaoyao⁴, GU Haifeng^{2,3}, LUO Zhuhua^{2,3}

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Third Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources, Xiamen 361005, China;

3. Nanjing University of Information Science & Technology, Nanjing 210044, China;

4. Fisheries Resources Monitoring Center of Fujian Province, Fuzhou 350003, China)

Abstract: Due to the increasing influence of human production activities, the eutrophication of aquatic ecosystem has aggravated and the red tide closely related to eutrophication have frequently occurred and become a global disaster problem around the world after the period of industrial revolution. The occurrence of red tide will not only damage the marine ecosystem seriously, but also pose a great threat to aquaculture. Although high costs investment with the existing physical and chemical methods can be utilized to control red tide, they may also have negative impacts on the environment. Therefore, to find effective ways to ensure that the occurrence of red tide to be under our control and reduce its adverse effects have become an urgent task. In the previous studies, it stated that some bacteria have the function of inhibiting algae growth and even killing algae, which attracted people's attention gradually. It has shown great potential in the prevention and control of red tide. In recent years, more and more algicidal bacteria have been isolated and identified, which makes a deeper understanding of their algicidal mechanisms. In this paper, the distribution, species and mechanisms of algicidal bacteria were summarized, and the future research direction of marine algicidal bacteria in the field of red tide control was prospected, so as to provide reference and help for developing new red tide control methods.

Key words: eutrophication; red tide; algicidal bacteria; mechanism