

中肋骨条藻高效溶藻菌FDHY-C3的分离鉴定及溶藻作用研究

石新国^{1,2}, 李悦¹, 肖宇淳¹, 郑文煌¹,
刘乐冕^{1,2}, 陈剑锋^{1,2}

(1.福州大学 生物科学与工程学院, 福建 福州 350108; 2.海产品废弃物综合利用工程技术研究中心, 福建 福州 350108)

摘 要:从福建长乐海域的表层海水中分离获得一株对中肋骨条藻具有高效溶藻作用的溶藻菌 FDHY-C3, 通过形态学、生理生化及 16S rDNA 序列分析表明, 菌株 FDHY-C3 属于交替单胞菌属 (*Alteromonas*)。该菌株对常见的甲藻 (dinoflagellate)、硅藻 (diatom) 以及针胞藻 (raphidophyte) 类的多种赤潮藻都有较高的溶藻作用, 对中肋骨条藻溶藻效果尤为明显, 72 h 可达 98.18%。溶藻菌 FDHY-C3 通过胞外分泌物间接溶藻; 溶藻物质的溶藻特性不受反复冻融的影响, 但是受酸碱性及温度的影响; 溶藻活性物质具有被乙醇和乙酸乙酯沉淀的特性, 为蛋白类物质, 分子量为 10~14 kD。

关键词:赤潮; 赤潮藻; 中肋骨条藻; 溶藻菌; 溶藻特性

中图分类号:X172 文献标识码:A 文章编号:1007-6336(2021)01-0114-08

Isolation and identification of a high efficiency algicidal bacterium FDHY-C3 and algicidal characteristics on *Skeletonema costatum*

SHI Xin-guo^{1,2}, LI Yue¹, XIAO Yu-chun¹, ZHENG Wen-huang¹,
LIU Le-mian^{1,2}, CHEN Jian-feng^{1,2}

(1.College of Biological Science and Engineering, Fuzhou University, Fuzhou 350108, China; 2.Fujian Engineering Research Center for Comprehensive Utilization of Marine Products Waste, Fuzhou University, Fuzhou 350108, China)

Abstract: An algicidal bacterium (FDHY-C3) with high-efficiency algicidal activity was isolated from the surface water of Changle coastal area, Fujian province. The morphological, physiological, biochemical and 16S rDNA sequence analysis was performed and the results indicated that the strain FDHY-C3 belongs to the genus of *Altermonas*. This strain showed a broad algicidal activity on diatoms, dinoflagellates and raphidophytes. The highest algicidal rate was detected on *Skeletonema costatum*, the algicidal rate can reach 98.18% in 72 h. The algicidal compounds was detected in extracellular secretions of FDHY-C3 cells through an indirectly dissolve way on target algal cells. The algal-lytic compounds of FDHY-C3 were not affected by freezing, but were affected by acidity and alkalinity and high temperature. The compounds can be extracted by ethanol and ethyl acetate, and was estimated to be protease. The molecular weight of this compound was between 10 kD and 14 kD.

Key words: harmful algae bloom; harmful algae; *Skeletonema costatum*; algicidal bacterium; algicidal characteristics

收稿日期:2019-11-28, 修订日期:2020-01-13

基金项目:国家自然科学基金项目(41976130); 福州市“十三五”海洋经济创新发展示范平台项目(FZJH15)

作者简介:石新国(1981—),男,山东聊城人,主要研究方向为海洋环境科学, E-mail:xshi@fzu.edu.cn

通讯作者:陈剑锋,教授, E-mail:jfchen@fzu.edu.cn

赤潮是严重的海洋灾害之一,通常会对海洋环境、渔业资源和人类健康造成严重的影响^[1]。我国东南沿海一直都是赤潮的高发海域^[2]。每年春季形成硅藻和甲藻的爆发性繁殖,其中中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)是重要的赤潮原因种之一。该藻种是一种广温、低盐的近岸性硅藻,广泛分布于我国沿海海域^[3],繁殖速率快,适应性强,除冬季外均有暴发赤潮的记录。

溶藻菌在赤潮暴发过程中具有重要的作用^[4],一些研究者认为赤潮的终止与溶藻菌有直接的关系^[5-6]。这类细菌分泌的胞外物质I具有高效、专一地杀死或者抑制藻类生长的作用^[4],开发利用这些溶藻菌用于赤潮的生物防控是当今最热门的研究方向之一^[7-9]。不同种类溶藻菌的溶藻范围和方式存在较大的差异。管成伟等^[10]用菌株LP-10对25种藻种进行了溶藻试验,发现菌株仅对其中除球形棕囊藻外的5种藻有溶藻效果,而对其余20种藻几乎没有效果。Kim等^[5]发现溶藻细菌的溶藻效应也表现出一定的选择性,Pokrzywinski等^[11]分离得到的菌株IRI-160仅对裸甲藻类藻种有较高的溶藻活性。这种特性使菌株对于有害藻的控制具有选择针对性。而有些菌株溶藻的范围比较广泛,能够溶解多种门类的藻种,如Zhang等分离的溶藻菌Y42^[12],对多种甲藻和硅藻均有一定的溶藻活性。溶藻细菌溶藻一般有直接溶藻和间接溶藻两种方式^[4,13]。以往的报道认为 γ -变形菌纲细菌的溶藻方式既有直接溶藻^[5],也有间接溶藻^[14]。Jung等报道了一株假交替单胞菌,属于 γ -变形菌纲,对硅藻冠盘藻(*Stephanodiscus hantzschii*)有较好的溶藻效果,在溶藻过程中溶藻菌通过菌毛附着在藻细胞外壁上,释放出溶藻物质溶藻,属于直接溶藻^[12]。有些报道认为交替单胞菌溶藻方式多为间接溶藻^[13-15]。研究溶藻菌的溶藻范围以及溶藻方式对认识菌藻之间的互作关系有重要意义。

本研究从福建长乐海域筛选出一株对中肋骨条藻有高效溶藻活性的细菌,经16S rDNA鉴定,为交替单胞菌属(*Alteromonas* sp.),将其命名为交替单胞菌FDHY-C3(*Alteromonas* sp. FDHY-C3)。进一步的研究发现,这株溶藻细菌对常见

的甲藻、硅藻以及针胞藻类等赤潮藻都有一定的溶藻作用,并且FDHY-C3通过胞外分泌物间接溶藻。因此,本文对这株溶藻细菌的代谢产物做了进一步研究,为后续深入研究溶藻细菌的溶藻机制提供了菌种资源和基础。

1 材料与方法

1.1 藻种来源与培养方法

中肋骨条藻购自上海光语生物科技有限公司,米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)、三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum*)、东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)、赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo*)、强壮前沟藻(*Amphidinium carterae*)、伊姆裸甲藻(*Gymnodinium impudicum*)、亚历山大藻(*Alexandrium tamarense*)购自厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室。中肋骨条藻与三角褐指藻采用F/2+Si培养基,其他藻种采用F/2-Si培养基,培养条件均为20℃,光照强度为80 $\mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光暗周期为14:10。实验开始前,对藻液进行抗生素预处理以去除污染细菌对溶藻实验的影响,将生长状态处于指数期的藻细胞培养液用于溶藻实验。

1.2 溶藻细菌的分离与鉴定

从福建长乐海域采集不同区域的表层海水,经稀释涂布和划线培养得到纯化菌株,并进行富集培养。对得到的纯菌进行筛选,将菌液以2%的体积比与藻液进行共培养,判断其溶藻效果。在72 h内具有超过80%溶藻率的菌株被认为是溶藻菌,溶藻率公式如下:

$$\text{溶藻率} = (1 - \text{实验组藻细胞数} / \text{对照组藻细胞数}) \times 100\%$$

溶藻细菌形态学及生理生化特性的鉴定按照《常见细菌系统鉴定手册》^[16]进行。提取菌株培养物总基因组DNA,以其为模板,使用引物(16S-27F: AGAGTTTGATCMTGGCTCAG, 16S-1492R: TACGGYTACCTTGTTACGACTT)^[17]对溶藻细菌的16S rDNA片段进行PCR扩增、克隆和测序。利用MEGA7软件对本研究所获得的16S rDNA以及报道的其他溶藻菌序列进行进化分析,对于线性分析结果采用邻接(Neighbor-joining)的方法进行建树。

1.3 溶藻细菌对不同赤潮藻的溶藻效果

为研究不同浓度下溶藻菌对中肋骨条藻的溶藻活性,菌液与藻液以0.5%、1%、2%的体积比进行共培养。对照组为加入同体积无菌2216E培养基的同时期中肋骨条藻藻液。计算藻细胞浓度和溶藻率。为了探讨本研究所分离的溶藻菌对不同赤潮藻的溶藻效果,将各赤潮藻培养至对数生长期,分别加入2%体积的溶藻细菌菌液。设置空白对照,计算藻细胞浓度和溶藻率。

1.4 溶藻细菌的溶藻特性

为确定溶藻细菌的溶藻方式,将对数生长期的中肋骨条藻分为4组,第1组加入2%体积的溶藻细菌菌液;第2组加入2%体积经0.22 μm 滤膜过滤后的溶藻细菌的胞外产物;第3组加入2%体积溶藻细菌的菌细胞悬液(细菌的培养液经离心、去上清液,用等体积无菌海水清洗重悬);第4组加入2%体积无菌细菌培养基作为对照组,计算滤液和细菌细胞处理的培养物的藻细胞浓度和溶藻率。

1.5 扫描电子显微镜观察的溶藻过程

将分离得到的细菌代谢物以2%的比例添加到中肋骨条藻对数期培养物中,于不同时间点取样,使用2.5%戊二醛固定菌藻共培养物。通过3.5 kD的透析袋脱盐,将样品滴于单晶硅片上,干燥后喷金,用场发射扫描电镜(Nova NanoSEM 230)观察。

1.6 溶藻细菌代谢物性质

理化性质:将溶藻细菌的无菌滤液分别进行 α -萘酚试验(Molish)、碘试验,同时用不同浓度的(0.1%、0.5%和1.0%)醋酸铅处理菌液后进行溶藻实验。

热稳定性:将溶藻菌滤液在-80 $^{\circ}\text{C}$ 、20 $^{\circ}\text{C}$ 、40 $^{\circ}\text{C}$ 、80 $^{\circ}\text{C}$ 和120 $^{\circ}\text{C}$ 下保持20 min,在室温下使其回温后进行溶藻实验。

酸碱稳定性:将溶藻细菌的无细胞滤液pH调节至3、7、9和11,保持2 h,然后调回初始pH进行溶藻实验。

有机溶剂萃取:将溶藻细菌的滤液分别与等体积有机溶剂(包括正己烷、正丁醇、二氯甲烷和乙酸乙酯)混合,剧烈振荡1 h后,静置收集有

机相,然后将有机相的各部分合并、蒸干,溶于二甲基亚砜(DMSO)中,以等体积浓度($v/v=2\%$)的DMSO作为溶剂对照,进行溶藻实验。

溶藻物质分子量大小:取10 mL溶藻菌滤液于不同分子量大小的透析袋内(3.5 kDa、10 kDa和14 kDa),用100倍体积无菌水于4 $^{\circ}\text{C}$ 下透析24 h(期间换3次水),透析后的产物用于溶藻实验,对不同大小截留物质溶藻率进行 t 检验,当 $p<0.05$ 时,认为差异显著。

以上各溶藻实验以2%体积接种到藻类培养物中,24 h后取样进行溶藻实验,设置对照组,每个处理设置3个重复。

2 结果与讨论

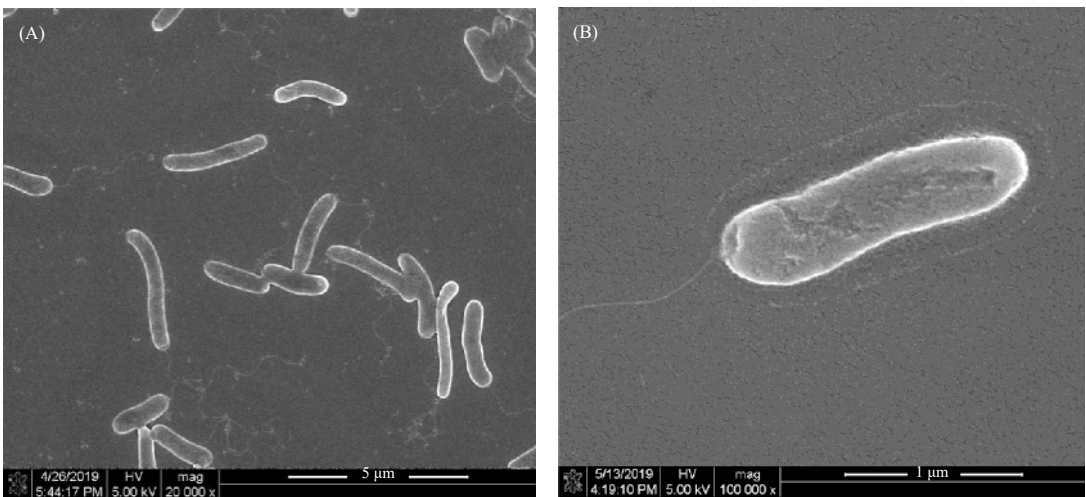
2.1 溶藻细菌的分离与鉴定

经分离纯化后,初步得到35株细菌,与藻共培养后筛出1株对中肋骨条藻具有较高溶藻活性的海洋细菌,将其命名为FDHY-C3。显微镜观察的结果显示,经该菌株处理后,中肋骨条藻由链状断裂成单个细胞或者聚集成团,藻细胞的细胞壁发生变形破裂,该菌株对中肋骨条藻的溶藻率为95.45%。

该溶藻细菌的扫描电镜图片如图1所示,呈短杆状,长度为2~4 μm ,有鞭毛。革兰氏实验、芽孢染色、运动性及生理生化实验结果如表1所示。

对16S rDNA片段进行PCR扩增测序并将序列进行了登录(NCBI登录号:MN463099),序列与Zhou等人在南极洲乔治王岛麦克斯韦湾沉积物发现的产蛋白酶菌*Alteromonas* sp. SS12.2基因的相似性为99%^[18],所以初步鉴定溶藻细菌FDHY-C3属于交替单胞菌(*Alteromonas* sp.),将其命名为*Alteromonas* sp. FDHY-C3。进化树分析结果再次验证了FDHY-C3的上述种属关系(见图2),与其他几个交替单胞菌聚为一支,和同属于 γ -变形菌假交替单胞菌有较近的进化关系。

在以往的研究中,研究人员从赤潮发生的海域分离出多种溶藻细菌^[19-20],以期用于开发防治赤潮的生物制剂^[21]。目前关于中肋骨条藻藻种的溶藻细菌尚不多见^[15,22]。菌株FDHY-C3的获得将为深入研究中肋骨条藻在暴发赤潮过程中的菌藻关系提供良好的材料。



(A)放大 20,000 倍; (B)放大 100,000 倍

图 1 溶藻细菌 FDHY-C3 扫描电镜图片

Fig. 1 Scanning electron microscopy image of algalicidal bacterium FDHY-C3

表 1 溶藻细菌 FDHY-C3 生理生化特性

Tab.1 Physiological and biochemical characteristic of algalicidal bacterium FDHY-C3

指标	结果	指标	结果
革兰氏染色	-	苯丙氨酸脱氨酶	-
芽孢染色	-	接触酶	+
甲基红(MR)	-	淀粉水解	+
V-P测定	-	糖发酵	
运动性	-	葡萄糖	+
脲酶	-	果糖	-
柠檬酸盐利用	-	木糖	-
耐盐性		蔗糖	+
5%	+	乳糖	+
10%	+	半乳糖	+
15%	+	甘露醇	+
20%	-		

2.2 溶藻细菌对其他赤潮藻的溶藻作用

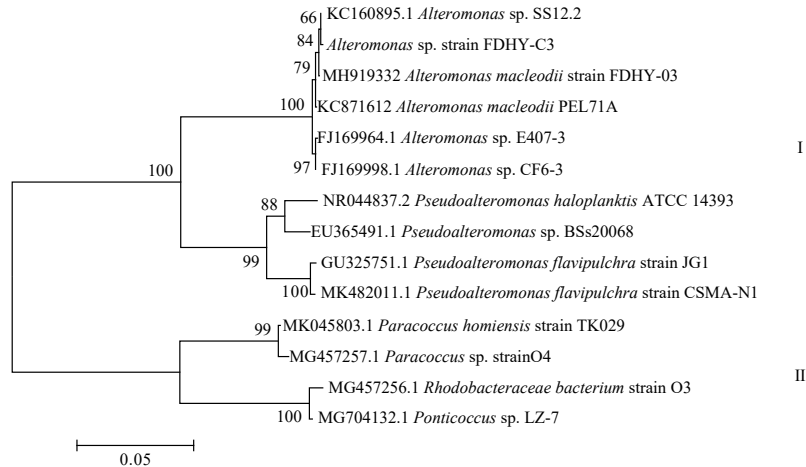
为研究所分离的溶藻菌对不同赤潮藻的溶藻范围,采用几种典型的甲藻、裸甲藻以及硅藻测试该细菌的溶藻活性。如图 3 所示,菌株 FDHY-C3 具有较广谱的溶藻能力,对几种赤潮藻均能产生不同程度的溶藻效果,对中肋骨条藻和东海原甲藻效果最为明显。对中肋骨条藻效果最佳,48 h 溶藻率为 94.44%,72 h 能达到 98.18%;对伊姆裸甲藻、强壮前沟藻、赤潮异弯藻也有 70% 以上的溶藻活性,对亚历山大藻、米氏凯伦

藻和三角褐指藻的溶藻效果较差(溶藻率小于 50%)。

溶藻菌能够抑制或者溶解的目标藻种有其特异性。本研究分离得到的溶藻菌 FDHY-C3 具有较广谱的溶藻能力,对几种常见的赤潮藻包括中肋骨条藻、东海原甲藻、伊姆裸甲藻、强壮前沟藻以及赤潮异弯藻都具有较高的溶藻活性。然而之前的报道结果显示,有些菌株溶藻的范围比较窄,仅能够溶解特异的类群,甚至仅溶解特异的藻种,比如管成伟等报道的菌株 LP-10 仅对其中除球形棕囊藻外的 5 种藻有溶藻效果,但是对其余 20 种藻几乎没有溶藻效果^[11]。Pokrzywinski 等^[12]分离得到的菌株 IRI-160 仅对裸甲藻类藻种具有较高的溶藻活性。Kim 等^[5]发现溶藻细菌的溶藻效应也表现出一定的选择性,这种特性使菌株对于有害藻的控制具有选择针对性。相对于以上类别的菌株,FDHY-C3 具有广谱的溶藻效果,并且对于多种赤潮藻都具有良好的溶藻作用,是广谱赤潮溶藻菌剂创制的优良菌种材料。

2.3 溶藻细菌的溶藻特性

溶藻细菌溶藻一般有直接溶藻和间接溶藻两种方式^[4,14]。本研究对溶藻菌培养后的菌体进行了分离,发现菌液的溶藻率能达到 94.0%,代谢物的溶藻率为 68.0%,菌细胞的溶藻率为 24.0%,菌细胞溶藻效果不明显(见图 4)。因此,推测溶藻物质主要存在于过滤后的无菌培养液中,属于



I. γ -变形菌, II. 噬纤维菌黄杆菌-拟杆菌群, 图中对节点值大于 50% 的数值进行了标记

图 2 溶藻菌株 FDHY-C3 系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of algicidal bacterium strain FDHY-03

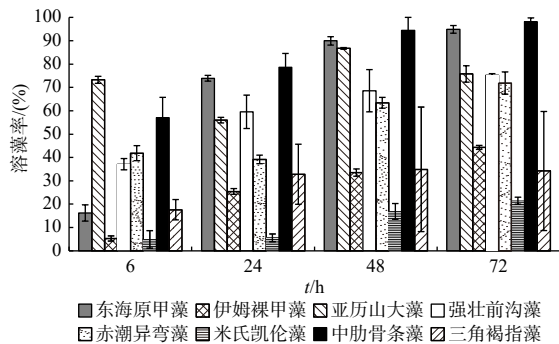


图 3 溶藻细菌 FDHY-C3 对不同赤潮藻的溶藻效果

Fig. 3 The algal-lytic activity of algicidal bacterium FDHY-C3 against different harmful-algal-bloom-forming species

间接溶藻方式, 与之前报道的交替单胞藻溶藻方式类似^[14-15]。

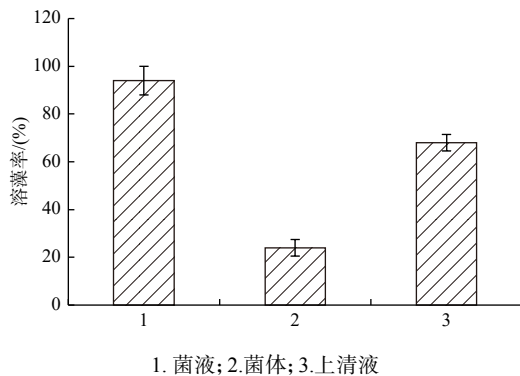


图 4 溶藻细菌 FDHY-C3 对中肋骨条藻的溶藻方式

Fig. 4 The attack manner of algicidal bacterium strain FDHY-C3 on *S. costatum*

FDHY-C3 在不同初始菌浓度、不同处理时间下的藻丰度如图 5 所示。不同浓度的 FDHY-C3 对中肋骨条藻均有一定的溶藻效果(见图 5A)。对照组藻丰度均呈上升趋势, 说明加入的细菌培养基并没有影响藻类生长。2% 浓度实验组的藻丰度随着时间增加基本呈下降趋势, 0.5% 浓度的溶藻细菌溶藻率为 49.62%, 1% 浓度的溶藻细菌溶藻率为 53.28%, 2% 浓度的溶藻细菌溶藻效果最好, 72 h 溶藻率为 98.18%。

2.4 扫描电子显微镜观察 FDHY-C3 的溶藻现象

场发射扫描电镜对溶藻细菌的溶藻过程如图 6 所示, 在 0 h 时骨条藻的藻细胞基本保持完整的状态; 6 h 时细胞壁中间开始断裂或者破洞; 12 h 时细胞壁裂口处破洞扩大到只剩一半; 到 24 h 时藻细胞壁基本消失, 只剩下骨条藻细胞头尾的两个壳面和连接相邻细胞的刺。由此可见, 藻细胞壁是 FDHY-C3 溶藻代谢物主要的攻击对象。这些结果丰富了对溶藻菌溶藻方式的认知。

2.5 溶藻细菌 FDHY-C3 代谢物性质

菌株 FDHY-C3 代谢物的溶藻活性在低温区间所受影响较小(见图 7A), 不耐高温, 当其代谢物经 120 °C 处理后, 溶藻物质失去活性, 溶藻率仅 5.42%, 因此菌株 FDHY-C3 的溶藻活性不具热稳定性。菌株 FDHY-C3 的代谢产物在 pH 为 7 处理下的活性物质溶藻效果变化不大, 强酸强碱条件导致溶藻活性降低(见图 7B), 说明溶藻细菌分泌的溶藻物质不具酸碱稳定性, 溶藻活性

物质可能为蛋白类化合物。

对 FDHY-C3 进行 α -萘酚、碘实验, 可以看

出, 经萘酚反应, 水相和有机相分界处并未出现紫红色环状; 碘试验也并未出现蓝色, 说明菌株

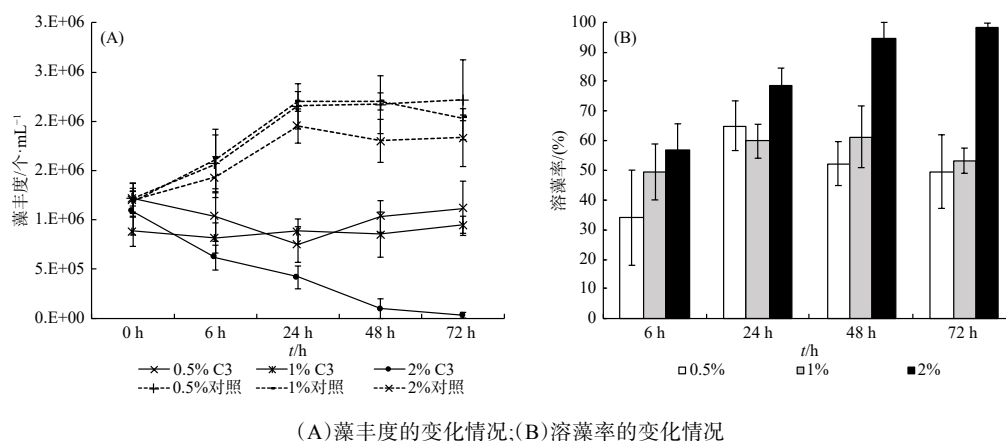
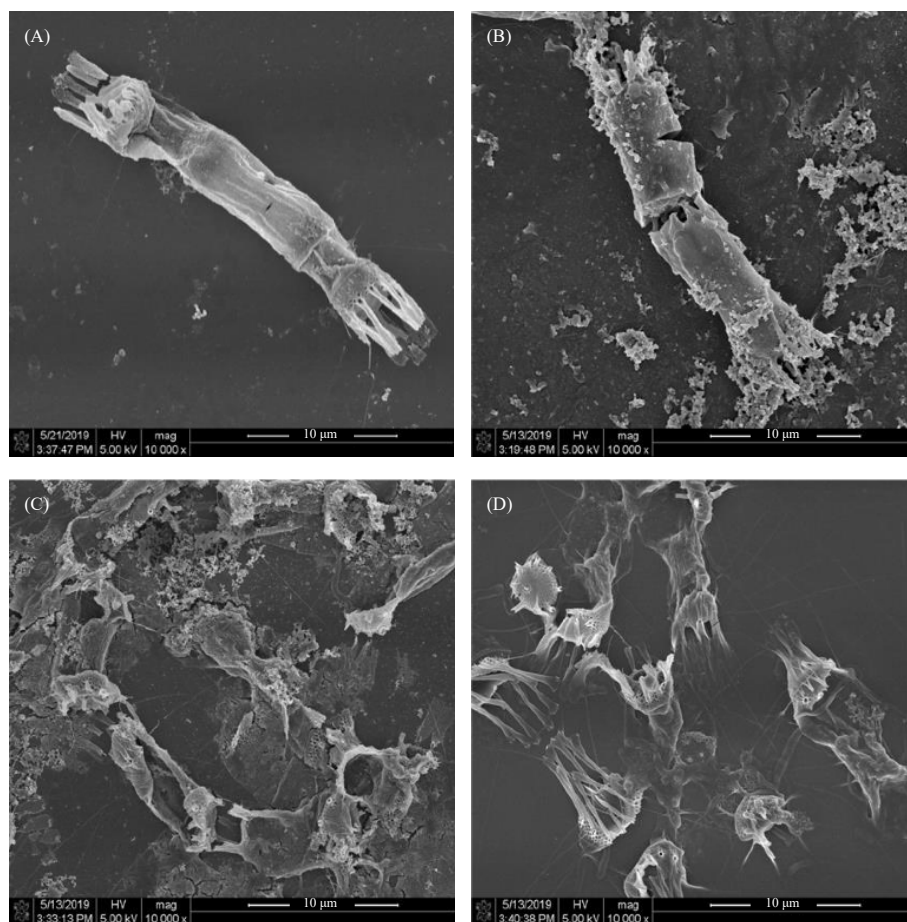


图 5 不同初始浓度的溶藻细菌 FDHY-C3 对中肋骨条藻的溶藻效果

Fig. 5 Algicidal effect of algicidal bacterium FDHY-C3 with different initial concentrations on *S. costatum*



(A)(B)(C)(D)分别为溶藻菌处理后 0 h、6 h、12 h 和 24 h

图 6 扫描电镜下溶藻细菌 FDHY-C3 对中肋骨条藻的溶藻过程

Fig. 6 Scanning electron microscopic observations of *S. costatum* attacked by algicidal bacterium FDHY-C3

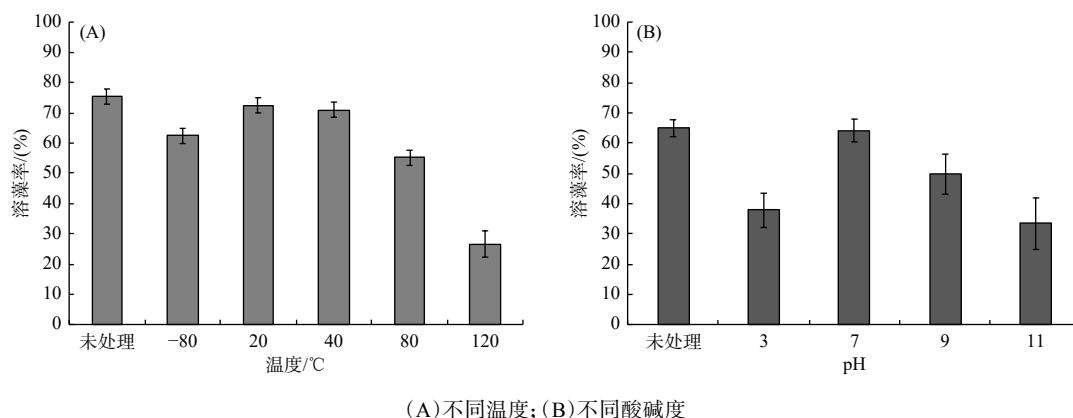


图 7 不同条件处理后的菌株 FDHY-C3 代谢物对中肋骨条藻的溶藻效果

Fig. 7 Algicidal efficiency of FDHY-C3 metabolites under different conditions challenge to *S. costatum*

FDHY-C3 产生的溶藻活性物质为非多糖类化合物。醋酸铅实验结果显示,代谢物的溶藻活性明显受醋酸铅浓度影响,当其浓度升高时,溶藻活

性物质的溶藻效果明显下降(见图 8A),该溶藻物质可用乙酸乙酯进行纯化(见图 8B)。

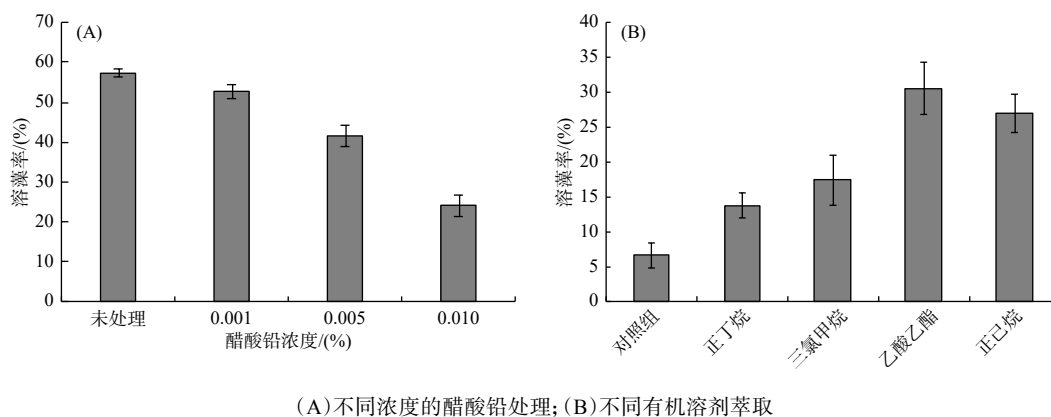


图 8 溶藻菌 FDHY-C3 溶藻物质特性

Fig. 8 Characteristics of algicidal compound generated by algicidal bacterium FDHY-C3

溶藻代谢物经 MWCO=3.5 kD 的透析袋透析后,溶藻效率无明显降低,说明透析前后代谢物中的有效溶藻分子没有流失,其分子量>3.5 kD (见图 9);溶藻代谢物经 MWCO=14 kD 的透析袋透析后溶藻效果明显低于透析前($p < 0.05$, t 检验),说明 FDHY-C3 的有效溶藻物质<14 kD;最后用 MWCO=10 kD 的透析袋进行透析,透析前后的溶藻效率无明显差异,说明有效溶藻分子量>10 kD。综上,溶藻细菌 FDHY-C3 溶藻活性物质的分子量为 10 kD~14 kD。

溶藻菌所产生的溶藻活性物质结构和作用方式多种多样,这些溶藻物质包括氨基酸、脂肪酸、代谢物小分子以及功能肽等^[4]。本研究通过

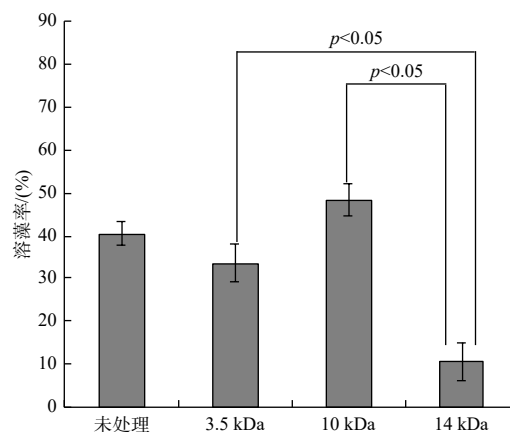


图 9 菌株 FDHY-C3 溶藻活性组分的分子量大小

Fig. 9 Molecular weight of algicidal compounds of bacterium FDHY-C3

对溶藻物质进行酸碱耐受性测验以及不同极性的有机溶剂提取实验推测该溶藻物质为蛋白类物质,这和之前报道的多种研究结果类似^[23]。本研究中溶藻物质分子量为10 kD~14 kD,比汪辉等人报道的溶藻菌JZ-1^[15]以及Wang等报道的溶藻菌EC-1溶藻物质分子量大^[24],而比Lei报道的SWJS2菌株产生的高于30 kD的溶藻物质分子量小^[23],因此推测为一种新的溶藻物质。

3 结 论

(1)本研究中分离得到的菌株FDHY-C3属于交替单胞菌属(*Alteromonas*),对中肋骨条藻72 h溶藻率为98.18%,为目前报道的赤潮藻高效溶藻菌之一。

(2)溶藻菌FDHY-C3对各类赤潮藻具有广泛的溶藻效果,对甲藻门、硅藻门以及针胞藻纲的多种赤潮藻都有一定的溶藻作用。

(3)溶藻菌FDHY-C3通过胞外分泌物间接溶藻,首先溶解藻细胞壁,溶藻物质鉴定为蛋白类物质,分子量为10 kD~14 kD。

参考文献:

- [1] LANDSBERG J H. The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms[J]. *Reviews in Fisheries Science*, 2002, 10(2): 113-390.
- [2] 许珠华,侯建军. 福建沿岸海域赤潮发生特点及防治措施[J]. 台湾海峡, 2006, 25(1): 143-150.
- [3] 黄秀清,蒋晓山,王桂兰,等. 长江口中肋骨条藻赤潮发生过程环境要素分析: 水温、盐度、DO和pH特征[J]. 海洋通报, 1994, (4): 35-40.
- [4] MEYER N, BIGALKE A, KAULFUB A, et al. Strategies and ecological roles of algicidal bacteria[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2017, 41(6): 880-899.
- [5] KIM J D, KIM J Y, PARK J K, et al. Selective control of the *Prorocentrum minimum* harmful algal blooms by a novel algal-lytic bacterium *Pseudoalteromonas haloplanktis* AFMB-008041[J]. *Marine Biotechnology*, 2009, 11(4): 463-472.
- [6] LI D X, ZHANG H, CHEN X H, et al. Metaproteomics reveals major microbial players and their metabolic activities during the blooming period of a marine dinoflagellate *Prorocentrum donghaiense*[J]. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(2): 632-644.
- [7] 俞志明,邹景忠,马锡年,等. 治理赤潮的化学方法[J]. 海洋与湖沼, 1993, 24(3): 314-318.
- [8] JEONG J H, JIN J H, SOHN C H, et al. Algicidal activity of the seaweed *Corallina pilulifera* against red tide microalgae[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2000, 12(1): 37-43.
- [9] ANDERSON C R, BERDALET E, KUDELA R M, et al. Scaling up from regional case studies to a global harmful algal bloom observing system[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2019, 6: 250.
- [10] 管成伟. 来源于中国东海的溶藻细菌*Bacillus* sp. LP-10的溶藻特性及溶藻机制研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2014: 33-59.
- [11] POKRZYWINSKI K L, PLACE A R, WARNER M E, et al. Investigation of the algicidal exudate produced by *Shewanella* sp. IRI-160 and its effect on dinoflagellates[J]. *Harmful Algae*, 2012, 19: 23-29.
- [12] ZHANG F X, YE Q, CHEN Q L, 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): e01015-18.
- [13] MAYALI X, AZAM F. Algicidal bacteria in the sea and their impact on algal blooms[J]. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2004, 51(2): 139-144.
- [14] JUNG S W, KIM B H, KATANO T, et al. *Pseudomonas fluorescens* HYK0210-SK09 offers species-specific biological control of winter algal blooms caused by freshwater diatom *Stephanodiscus hantzschii*[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2008, 105(1): 186-195.
- [15] 汪辉,刘玲,牛丹丹,等. 一株海洋细菌对中肋骨条藻的溶解效应及其溶藻特性[J]. 中国环境科学, 2011, 31(6): 971-977.
- [16] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 353-390.
- [17] DELONG E F. Archaea in coastal marine environments[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1992, 89(12): 5685-5689.
- [18] ZHOU M Y, CHEN X L, ZHAO H L, et al. Diversity of both the cultivable protease-producing bacteria and their extracellular proteases in the sediments of the South China Sea[J]. *Microbial Ecology*, 2009, 58(3): 582-590.
- [19] KRISTYANTO S, KIM J. Isolation of marine algicidal bacteria from surface seawater and sediment samples associated with harmful algal blooms in Korea[J]. *Korean Journal of Microbiology*, 2016, 52(1): 40-48.
- [20] POKRZYWINSKI K L, TILNEY C L, MODLA S, et al. Effects of the bacterial algicide IRI-160AA on cellular morphology of harmful dinoflagellates[J]. *Harmful Algae*, 2017, 62: 127-135.
- [21] SU J Q, YANG X R, ZHENG T L, et al. Isolation and characterization of a marine algicidal bacterium against the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense*[J]. *Harmful Algae*, 2007, 6(6): 799-810.
- [22] SHI R J, HUANG H H, QI Z H, et al. Algicidal activity against *Skeletonema costatum* by marine bacteria isolated from a high frequency harmful algal blooms area in southern Chinese coast[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2013, 29(1): 153-162.
- [23] LEI F F, CUI C, ZHAO H F, et al. Purification and characterization of a new neutral metalloprotease from marine *Exiguobacterium* sp. SWJS2[J]. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2016, 63(2): 238-248.
- [24] WANG H, BUTT L, ROOKS P, et al. Characterisation of algicidal bacterial exometabolites against the lipid-accumulating diatom *Skeletonema* sp[J]. *Algal Research*, 2016, 13: 1-6.