

研究报告

溶藻菌 R1 的分离鉴定以及对栅藻共处代谢的影响

陆洪省* 刘文君 张瑶 王建燕 张庆莹 于梦梦

(山东科技大学化学与环境工程学院 山东 青岛 266590)

摘要: 【目的】分离并鉴定溶藻菌和栅藻, 并对溶藻菌抑制栅藻的机理进行分析。【方法】溶藻菌分离采用高氏一号培养基, 经多次划线纯化而得; 溶藻菌鉴定采用生理生化性质判定; 栅藻分离和鉴定主要采用镜检和《中国常见淡水浮游藻类图谱》完成; 溶藻菌对栅藻的影响分析测定包括: 测定栅藻叶绿素 a 变化、水体中溶解氧变化、藻细胞数目变化、藻蛋白表达变化、抑藻特殊物质测定等。【结果】共分离出 4 株溶藻菌(R1–R4), 通过对其理化性质测定初步判定均属于芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.), 其中溶藻菌 R1 对栅藻生长的影响最明显, 其对栅藻叶绿素 a 的抑制率为 65%、溶解氧最低达 6.5 mg/L, 远低于栅藻单独培养下的 10.4 mg/L; 栅藻单独培养条件下的蛋白质表达为 0.845 7 mg/L, 与溶藻菌 R1 共培养时栅藻蛋白表达仅有 0.192 6 mg/L; 傅里叶红外光谱(FTIR)测定表明溶藻菌对栅藻细胞结构产生影响; 相差显微镜对溶藻菌 R1–栅藻共培养动态观察图可以看出, 溶藻菌 R1 对栅藻的生长具有明显的抑制作用。【结论】从影响栅藻细胞结构、栅藻蛋白表达、栅藻光合作用等方面进行了分析, 为揭示溶藻菌对栅藻抑制的机理提供了一定的理论基础。

关键词: 溶藻菌, 栅藻, 叶绿素 a, 栅藻蛋白, 溶解氧

Identification of algicidal bacterium R1 and its influence on the metabolism of *Scenedesmus* in a co-culture

LU Hong-Sheng* LIU Wen-Jun ZHANG Yao WANG Jian-Yan
ZHANG Qing-Ying YU Meng-Meng

(College of Chemical and Environmental Engineering, Shandong University of Science and Technology,
Qingdao, Shandong 266590, China)

Abstract: [Objective] Objectives of this study were to isolate and identify algicidal bacteria and *Scenedesmus*, then analyze the inhibition mechanism on *Scenedesmus* by algicidal bacteria. [Methods] Streak culture and physio-chemical properties were used to purify and identify algicidal bacteria respectively. The methods in “Microscopy and Chinese common freshwater planktonic algae” were used to isolate and characterize *Scenedesmus*. The items including chlorophyll a, DO, *Scenedesmus*

Foundation item: Natural Science Foundation of Shandong Province (No. ZR2014EMM005); Human Resources and Social Security Hall Support (No. 20101008)

*Corresponding author: E-mail: hslu628@163.com

Received: July 01, 2015; **Accepted:** September 02, 2015; **Published online** (www.cnki.net): November 05, 2015

基金项目: 山东省自然科学基金面上项目(No. ZR2014EMM005); 山东省人力资源与社会保障厅资助项目(No. 20101008)

*通讯作者: E-mail: hslu628@163.com

收稿日期: 2015-07-01; **接受日期:** 2015-09-02; **优先数字出版日期**(www.cnki.net): 2015-11-05

cells, alga protein expression, special matter of algal inhibition were analyzed to clarify the influences of algicidal bacteria on scenedesmus. **[Results]** Four algicidal bacteria (R1–R4) were isolated and identified their genus of *Bacillus* sp. based on their physi-chemical properties. Algicidal bacteria R1 was proved for its most inhibition effects on scenedesmus. The inhibition of chlorophyll a was 65%; DO was 6.5 mg/L, far below to 10.4 mg/L obtained by the sole-culture of scenedesmus; The alga protein was only 0.192 6 mg/L and also far below to 0.845 7 mg/L of the normal alga protein expression without the inhibition of algicidal bacteria R1. FTIR results showed algicidal bacteria R1 could influence scenedesmus cell structure. The obvious inhibition of algicidal bacteria R1 on scenedesmus was also proved through phase contrast microscope during their co-culture process. **[Conclusion]** The inhibition mechanism of algicidal bacteria on scenedesmus including scenedesmus cell structure changes, scenedesmus protein and scenedesmus photosynthesis so on have been analyzed.

Keywords: Algicidal bacteria, Scenedesmus, Chlorophyll a, Scenedesmus protein, Dissolved oxygen (DO)

部分细菌具有溶解藻细胞、降解藻毒素的作用,被统称为溶藻细菌^[1]。20 世纪 70 年代, Daft 等研究发现^[2],富营养化水体中藻类叶绿素的含量与溶藻菌的数量之间存在着较好的相关性。在之后的几十年中,很多能溶解藻的细菌被分离出来^[3],国外报道的主要溶藻菌有假单胞菌属 *Alteromonas* sp.^[4]、粘细菌属 *Myxobacter* sp.^[5]、芽孢杆菌属、黄杆菌属等。国内学者彭超等^[6]分离获得 3 株溶藻细菌,生理生化鉴定为葡萄球菌属(*Staphylococcus* sp.)、芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)和节杆菌属(*Arthrobacter* sp.)。近些年来,国内外溶藻细菌大多分离自发生水华或赤潮的海洋及湖泊^[4-5,7],大多为革兰氏阴性菌^[1]。

生物除藻技术,尤其是利用溶藻菌来控制水华和赤潮的研究,越来越引起人们的关注^[8-9]。李云晖等研究了氧化铁纳米固定对溶藻菌除藻的影响^[10],郭吉等对太湖中分离到的溶藻菌的降解藻毒素的效果进行了分析^[11]。但到目前为止,溶藻菌除藻能力低、细菌有效抑制藻的生物量很低等仍然是制约生物除藻的关键因素^[12]。另外,对溶藻菌抑制藻类生长机理的研究仍然非常有限,所作研究侧重于溶藻现象和溶藻方式,对溶藻细菌与藻共处培养过程中溶藻物质的鉴定、对藻类蛋白质表达以及光合作用的影响等涉及甚少。

本研究从微富营养化水体中分离到几株溶藻菌,并对其溶藻能力、溶藻机理进行初步分析,所

用藻为微富营养化水样中的优势藻(栅藻),研究内容包括:抑藻物质的分离和鉴定(HPLC 方法);溶藻菌对藻代谢(如光合作用)的影响;溶藻菌对藻蛋白表达的影响等。不仅对溶藻菌与藻共处培养中的动态变化进行分析,还从分子生物学水平上对溶藻菌抑制藻生长的机理进行初步分析,为溶藻菌抑制藻类的研究提供一定的理论和实践基础。

1 材料与方法

1.1 溶藻菌分离与培养

溶藻菌富集:采用高氏一号培养基,培养基组成(g/L):可溶性淀粉 20.0, NaCl 0.5, KNO₃ 1.0, K₂HPO₄·3H₂O 0.5, MgSO₄·7H₂O 0.5, FeSO₄·7H₂O 0.01, pH 调整至 7.4–7.6, 1×10⁵ Pa 灭菌 20 min, 待用。将 10 mL 微富营养化水样接种到含有 150 mL 高氏一号液体培养基的三角瓶中, 30 °C、150 r/min 培养 7 d。

溶藻菌的分离:采用牛肉膏蛋白胨固体培养基(g/L):牛肉膏 3.0, 蛋白胨 10.0, NaCl 5.0, 琼脂 20.0, pH 调整为 7.2。将上述富集培养液划线培养到牛肉膏蛋白胨固体平板培养基上, 30 °C 静置培养, 待长出菌落后, 选取不同生长特征的单个菌落, 经过多次划线分离纯化得到的多株纯种菌保存 4 °C, 待用^[13-14]。

溶藻细菌的筛选:分别将上述分离到的溶藻菌接种到藻液中进行共培养, 培养条件 28 °C, 光照

4.8±0.2 klx (日光灯源)。用肉眼观察藻的绿色深浅, 从藻颜色由绿色变黄最快, 共选出 4 株溶藻菌, 暂命名为 R1、R2、R3 和 R4, 并保存在 4 °C, 待用。

1.2 栅藻的分离和筛选

藻分离培养基组成(g/L): 硝酸钾 1.25, 磷酸二氢钾 1.25, 硫酸镁 0.49, 乙二胺四乙酸二钠 0.5, 硼酸 0.1, 微量元素 0.21 mL, 3% (质量体积比) 的三氯化铁溶液, 固体平板培养基配制时加入 15 g/L 的琼脂, pH 调整为 7.1, 1×10⁵ Pa 灭菌 20 min 备用。藻的分离采用平板法, 具体过程为: 将含有藻的水样装入消毒过的小型喷雾器中, 打开培养皿盖, 把藻液喷射到固体平板培养基上, 盖好盖, 培养温度为 28 °C, 光照 4.8±0.2 klx (日光灯源) 条件下培养, 待长出藻菌落后, 借助镜检用消毒过的接种环挑选栅藻, 作为实验藻。水样取自山东科技大学砚湖, 为轻度富营养化水体, 栅藻形态观察依据《中国常见淡水浮游藻类图谱》^[15]。

1.3 溶藻菌发酵上清液对栅藻生长的影响测定

将分离纯化的溶藻菌在高氏一号液体培养基中 28 °C (150 r/min) 培养 4 d, 取发酵液 4 °C 离心 15 min (1 000 r/min), 上清液用 0.22 μm 的无菌纤维素酯微孔滤膜过滤除菌, 无菌滤液对栅藻培养液按体积比 0、5%、10% 和 15% 添加进行抑藻实验, 培养温度为 28 °C, 光照 4.8±0.2 klx (日光灯源), 每隔 24 h 取培养液, 用作叶绿素 a 测定。在培养过程中, 每隔 12 h 用溶氧仪(DO-6800, 上海诺博环保科技有限公司)测定栅藻单独培养液以及溶藻菌抑菌物质条件下培养液中溶解氧含量。叶绿素 a 测定方法采用丙酮提取法, 叶绿素 a 以及溶解氧测定时均采用 3 个平行实验。

1.4 溶藻菌生理生化性质测定

溶藻菌生理生化性质测定按照《常见细菌系统鉴定手册》方法进行。溶藻菌生长曲线制作: 将溶藻菌培养到牛肉膏蛋白胨液体培养基中, 30 °C、150 r/min 培养。每隔 24 h 取样一次, 在 600 nm 处测定吸光度, 制作生长曲线。

1.5 溶藻菌对藻细胞生长影响测定

藻细胞计数: 将藻培养液用力振荡混匀, 然后于无菌操作台取 1 mL 加入到 2.5 mL EP 管中, 再加入 1 滴 KI-I₂ 溶液, 染色 15 min。每个样品设 3 个平行, 将染色后液体滴入藻细胞计数板, 于光学显微镜(100×)观察并计数, 每样计数 10 次, 计算平均数。

将生长对数期的溶藻菌(菌细胞浓度大约为 4×10⁶ cells/mL)培养液, 按体积比 1:4 加入到藻培养液中进行共培养, 溶藻菌及藻所用培养基分别同 1.1 和 1.2 中所述。菌藻共培养条件为 28 °C, 光照 4.8±0.2 klx (日光灯源), 每隔 24 h 取藻菌培养液, 对细胞进行计数, 计数方法同上。以藻单独培养液做对照(未加溶藻菌培养), 培养条件及计数方法同上, 分别对藻细胞数目做生长曲线。

1.6 HPLC 法测定溶藻菌活性物质

每隔 12 h 取 5 mL 藻单独培养液以及藻菌共培养液(1.5), 离心后取上清液, 放入液氮中彻底冷却 10 min, 然后放入 -80 °C 保存, 等样品收集齐全后一起用高效液相色谱仪(Agilent1200, 安捷伦科技公司)测定代谢产物甲酸或乙酸。高效液相色谱 HPLC 选用交换柱(HPX-87C, Bio-Rad), 流动相为 0.05 mmol/L H₂SO₄, 柱温 50 °C, 流速 0.6 mL/min, 每次进样量为 20 μL, 所用检测器为紫外检测器。

1.7 溶藻菌对藻蛋白表达影响测定

将藻单独培养以及溶藻菌与藻类共培养两组实验进行对照, 分析溶藻菌对藻蛋白表达的影响。培养条件同 1.5, 培养 4 d 后, 分别取培养液 2 000 r/min 离心 10 min, 用无菌水进行洗涤, 重复上述操作 8 次, 最终获得藻泥, 然后用细胞破碎仪对藻泥进行细胞破碎, 破碎液在 4 °C 下 10 000 r/min 离心 15 min, 收集上清液, 采用紫外线测定其中蛋白质浓度, 测定波长为 280 nm 和 260 nm, 蛋白质含量(g/L)计算公式:

$$\text{蛋白质含量(g/L)} = 1.55 \times OD_{280} - 0.76 \times OD_{260}$$

1.8 相差显微镜观察溶藻菌-藻共培养

在藻单独培养和溶藻菌-藻共培养过程中,分别定时取培养液在相差显微镜(BM-PH, 上海光学仪器厂)下观察,放大倍数为 400×,分析溶藻菌对藻生长的动态影响。

1.9 溶藻菌对藻细胞结构的影响测定

溶藻菌培养液 10 000 r/min 离心 15 min,再用 0.22 μm 微孔滤膜对离心上清液过滤除菌得 20 mL 溶藻菌发酵液,将此发酵液与藻进行共培养作为实验组,对照组中以 20 mL 藻液体培养基代替溶藻菌发酵液,两者培养条件同 1.5 所述,分别培养 7 d 后 10 000 r/min 离心 15 min 收集藻,利用低温冷冻干燥机制得藻干粉,取藻干粉用 KBr 固定后于傅里叶红外光谱仪(FTIR-8900,天津市拓普仪器有限公司)测定。

2 结果与分析

2.1 溶藻菌的分离及生理生化测定结果

根据溶藻菌与栅藻共处培养时栅藻颜色变化情况,挑选 4 株抑藻能力强的溶藻菌进行生理生化等性质测定,并把这 4 株溶藻菌暂分别命名为 R1、R2、R3 和 R4。按照《常见细菌系统鉴定手册》判断溶藻菌 R1、R2、R3 和 R4 均为革兰氏阴性,且在固体平板培养基上形成的菌落均为白色、圆形。氧化酶、尿素反应、蔗糖利用、葡萄糖利用均为阳性(表 1),因此,溶藻菌 R1、R2、R3 和 R4 可初步判定属于芽孢杆菌属 *Bacillus* sp.。

表 1 溶藻菌的生理生化性质
Table 1 Physiological and biochemical properties of algicidal bacteria

Items	R1	R2	R3	R4
Shape	Long rod	Long rod	Long rod	Long rod
Gram staining	—	—	—	—
Nitrate reduction	+	+	+	+
Nitrite reduction	+	+	+	+
Catalase	—	—	+	+
Oxidase	+	+	+	+
Arginine	—	—	—	—
Ornithine	—	+	—	+
Lysine	+	—	—	—
Urea	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+
Maltose	+	—	—	+
Glucose	+	+	+	+
Xylose	—	—	—	—
Peptone	+	+	—	—

Note: +: Positive; —: Negative.

2.2 溶藻菌对栅藻释放氧的影响测定

藻类能够利用光进行光合作用,产生氧气。从表 2 可以看出,分离得到的 4 株溶藻菌对栅藻的光合作用都具有一定的抑制作用,其中溶藻菌 R1 对栅藻的抑制效果最明显。另外,将上述分离到的 4 株溶藻菌分别与栅藻共处培养,培养 4 d 后,发现藻类均有不同程度的变白或颜色变浅变黄的现象。

表 2 溶藻菌对栅藻光合作用产氧的抑制效果
Table 2 The inhibition on oxygen production from algae photosynthesis by algicidal bacteria

时间 Time (d)	清水 Rinsing	藻液 Solution of algae	R1+藻 R1+Solution of algae	R2+藻 R2+Solution of algae	R3+藻 R3+Solution of algae	R4+藻 R4+Solution of algae
1	8.3	10.3	9.9	10.8	11.1	10.4
2	8.4	11.7	9.4	10.1	10.7	9.6
3	8.4	12.7	7.4	8.5	7.3	9.1
4	8.6	13.1	7.1	8.2	7.1	8.7
5	8.4	12.1	6.6	7.1	6.7	7.3
6	8.5	10.4	6.5	6.8	6.7	7.4

象,其中与溶藻菌 R1 共处培养的栅藻变化最明显,由此初步判定溶藻菌 R1 对栅藻的抑制能力最强。

2.3 溶藻菌对栅藻叶绿素 a 的去除

将 4 株溶藻细菌(R1、R2、R3 和 R4)在 30 °C、150 r/min 振荡培养至菌悬液 OD_{600} 值为 0.4,然后离心,再对上清液过滤除菌,分别取无菌滤液 50 mL 加入到 200 mL 栅藻培养液中,同时设空白对照,培养 1 d 后分别测定叶绿素 a 浓度,计算溶藻菌对叶绿素 a 的抑制率,结果如图 1 所示。从图 1 可以看出, R1 对藻叶绿素 a 的抑制效果最明显,高达 65%, R3 对叶绿素 a 的去除率最低,为 21%。结合上述溶藻菌对藻类释放氧的抑制结果,选择溶藻菌 R1 作为代表菌株来研究其生长曲线,以及对栅藻蛋白等的抑制机理。

2.4 溶藻菌 R1 单独培养时的生长曲线

将溶藻菌 R1 单独在高氏一号液体培养基中培养,每隔 1 d 取培养液测定其 600 nm 处吸光度(OD_{600}),做成如图 2 所示生长曲线。从图 2 可以看出,溶藻菌 R1 迟缓期较短,而对数增长期较长,在培养 5 d 左右时,溶藻菌 R1 生长量达到最大,以后随培养时间延长生物量减小。

2.5 溶藻菌 R1 对栅藻细胞数目的影响

利用染色方法对藻细胞数目进行计数,分别做溶藻菌 R1 与栅藻共培养以及栅藻单独培养两种情况下的栅藻细胞数目随时间变化曲线(图 3)。从图

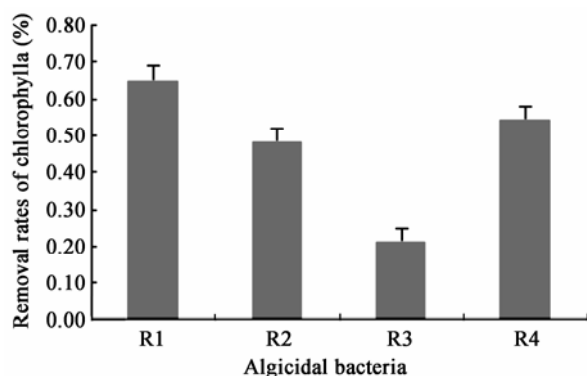


图 1 各溶藻菌对藻叶绿素 a 的去除率

Figure 1 The removal of chlorophyll a by algicidal bacteria

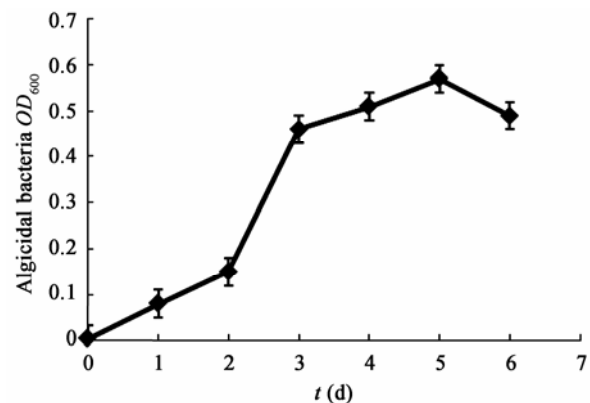


图 2 溶藻菌 R1 的生长曲线

Figure 2 The growth curve of algicidal bacterium R1

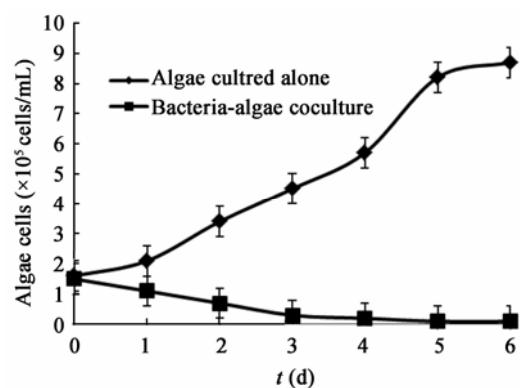


图 3 溶藻菌对藻细胞生长的抑制

Figure 3 The inhibition of algicidal bacteria on the growth of algae

3 可以看出,溶藻菌 R1 与栅藻共处培养过程中,随培养时间的延长,栅藻细胞数目持续减少,经过 6 d 的培养,栅藻从最初的 1.6×10^6 cells/mL 下降到 0.1×10^6 cells/mL。而栅藻单独培养条件下,藻细胞数目随培养时间延长而增加,从最初的 1.6×10^6 cells/mL 增加到 8.7×10^6 cells/mL。

2.6 溶藻菌 R1 对栅藻生长动态影响观察

图 4A 为溶藻菌 R1 与栅藻共培养 5 d,栅藻颜色明显变黄,而栅藻单独培养 5 d 后(图 4B),栅藻颜色仍然深绿色。分别取溶藻菌 R1 与栅藻共培养 3 d 和 5 d,栅藻单独培养 7 d 时的培养液在相差显微镜下观察,结果分别如图 5A、B 和 C 所示。从图 5A 和图 5B 可以看出,藻类经过 5 d 培养后死亡



图4 藻在不同培养条件下的生长

Figure 4 The growth of algae under different culture conditions

注: A: 藻与菌共培养 5 d; B: 藻单独培养 5 d.

Note: A: The coculture of algae with algicidal bacteria for 5 days; B: Singleculture of algae for 5 days.

或者是溶解的细胞数量远远高于培养 3 d 时藻类, 原因可能是溶藻菌 R1 在与藻培养过程中代谢产生的某些物质抑制了或者溶解了藻类细胞, 使藻类细胞生长变慢或是直接细胞破裂而死亡。另外, 图 5A、B 与图 5C 比较, 藻单独培养时, 藻的颜色明显比与溶藻菌 R1 共培养时绿, 因此, 溶藻菌 R1 对藻的生长抑制作用非常明显。

2.7 傅里叶红外光谱(FTIR)测定溶藻菌 R1 对藻的影响结果

用傅里叶红外光谱对正常藻类(对照组, 无溶藻

菌加入)细胞及溶藻菌发酵液(实验组)处理后的产物进行分析, 结果如图 6A 和 6B 所示。由图 6 可见, 对照组和处理组中, 藻类产物红外吸收光谱中主要的吸收峰位置大致一致, 峰形非常相近, 但各吸收峰的相对强度有所差异。从峰的归属来看, 对照组 $3\,379\text{ cm}^{-1}$ 和实验组 $3\,381\text{ cm}^{-1}$ 处为 O-H 伸缩振动区, 其振动变弱可能是藻细胞内多糖和蛋白质组分中 O-H 键遭到破坏; 对照组在 $1\,244\text{ cm}^{-1}$ 出现吸收峰, 而实验组在 $1\,262\text{ cm}^{-1}$ 出现较强的吸收峰, 这可能是 C-C 键伸缩振动区受到影响所致, 表明藻类细胞结构受到破坏。

2.8 藻细胞中蛋白质测定结果

分别对藻单独培养液以及溶藻菌与藻共培养液进行离心, 分离到藻类, 再用细胞破碎仪破碎藻细胞, 并用紫外方法测定处理液中藻蛋白的浓度, 结果如表 3 所示。从表 3 可以看出, 藻单独培养时藻蛋白浓度最高, 为 $0.845\,7\text{ g/L}$, 与溶藻菌 R4 共培养下的藻蛋白最低, 只有 $0.192\,6\text{ g/L}$, 因此, 溶藻菌 R1 体现除了很强的抑藻效果。

2.9 HPLC 测定溶藻菌特性物质

许丽丽^[16]报道了甲酸、乙酸是菌藻共处中产生的能够影响藻类光合作用的特性物质。本研究中, 通过高效液相色谱 HPLC 对溶藻菌与栅藻共处培养中甲酸和乙酸的产生进行了测定, 结果如图 7 所示。图 7 中, 1 号峰代表甲酸, 出峰时间大概为 2.38 min ,

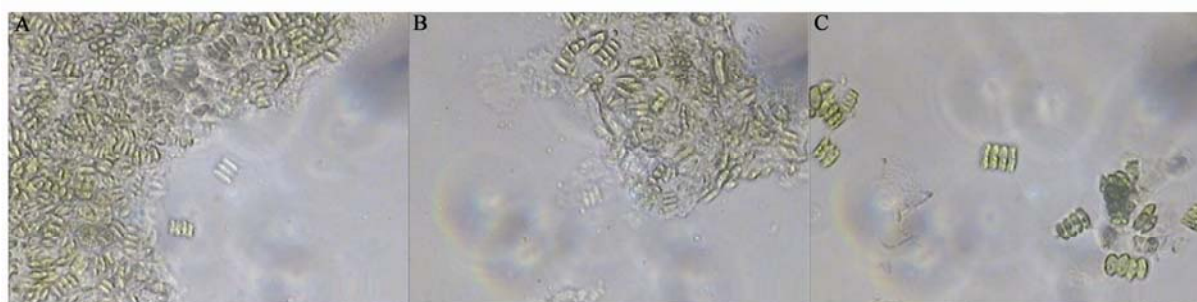


图5 不同培养条件下藻生长的相差显微镜图

Figure 5 Phase contrast microscope observation for algae under different culture conditions

注: A: 藻与溶藻菌共培养 3 d; B: 藻与溶藻菌共培养 5 d; C: 藻单独培养 7 d.

Note: A: The 3 days coculture of algicidal bacteria with algae after; B: The 5 days coculture of algicidal bacteria with algae; C: The 7 days culture of algae alone.

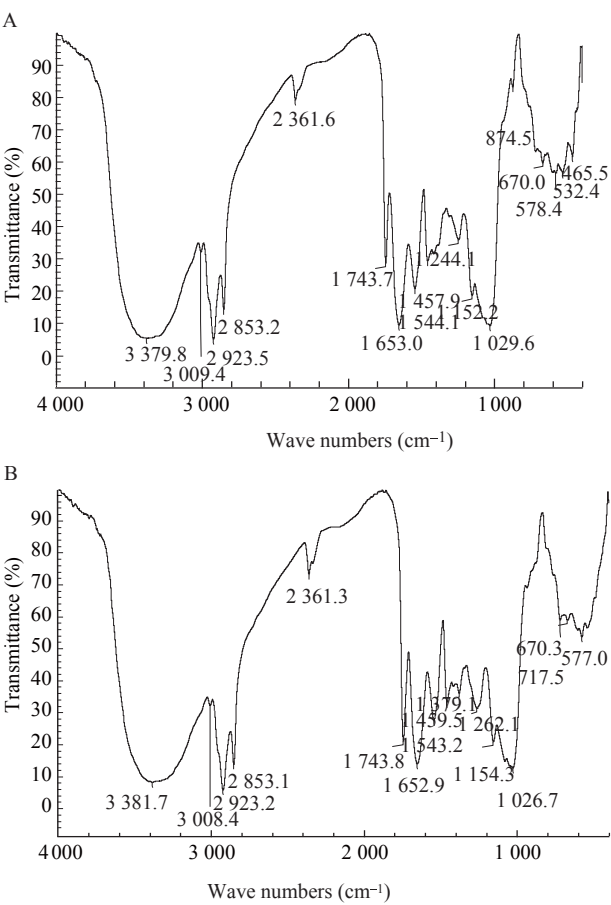


图 6 藻在不同培养条件下的红外光谱图
Figure 6 Infra-red spectrogram of algae under different culture conditions

注：A：藻单独培养；B：藻与溶藻菌共培养。
Note: A: Algae cultured alone; B: The coculture of algae with algicidal bacteria.

2 号峰代表乙酸，出峰时间大概为 3.68 min，从图 7A 可以看出，在菌藻共处培养液中只有乙酸被检测出，从图 7B 可以看出，在藻单独培养液中，甲

酸、乙酸均被检测到，可能原因是溶藻菌 R1 与栅藻共培养过程中溶藻菌对栅藻的代谢产生了影响，抑制了藻类对乙酸的产生代谢。

3 讨论

关于溶藻机理，一般认为溶藻菌分泌杀藻物质通过作用于藻的生理过程，来达到抑制或杀死藻细胞的结果。Daft 等^[2]研究发现，细菌可以通过分泌能溶解藻细胞壁的酶来逐渐溶解整个藻细胞。在本研究中，通过 HPLC 测得溶藻菌 R1 与栅藻共培养液中只有乙酸没有甲酸，而在栅藻单独培养时甲酸和乙酸均被检测出，可能的原因是溶藻菌与栅藻共培养过程中，溶藻菌 R1 抑制了栅藻对甲酸的产生代谢。另外，溶藻菌对栅藻蛋白表达量以及细胞结构上的影响在本研究也被证明(表 3 和图 6),这可能是因为溶藻菌能分泌溶解栅藻细胞壁的物质。另外，溶藻菌与栅藻共培养体系中溶解氧的浓度明显低于栅藻单独培养(表 2)，Banin 等^[17]和 Subashchandrabose 等^[18]认为溶藻作用是通过抑制或影响藻细胞的光合作用来实验的。据赵鹏^[19]研究表明，细菌与藻共培养过程中，由于细菌能消耗藻类光合作用产生的氧气而使共培养体系中溶解氧浓度降低。

本研究中溶藻菌与栅藻共培养体系中溶解氧低的原因，极有可能是溶藻菌对栅藻光合作用的抑制导致，因为溶藻菌对栅藻叶绿素 a、栅藻蛋白的表达、代谢过程等都产生了明显的抑制效果，但是溶藻菌抑制栅藻光合作用的机理还需要进一步研究来阐释。

表 3 溶藻菌对藻蛋白表达的抑制效果					
Table 3 The inhibition of protein production from algae by algicidal bacteria (g/L)					
Alage cultured	Only	R1	R2	R3	R4
Protein concentration	0.845 7	0.192 6	0.200 1	0.194 5	0.556 1

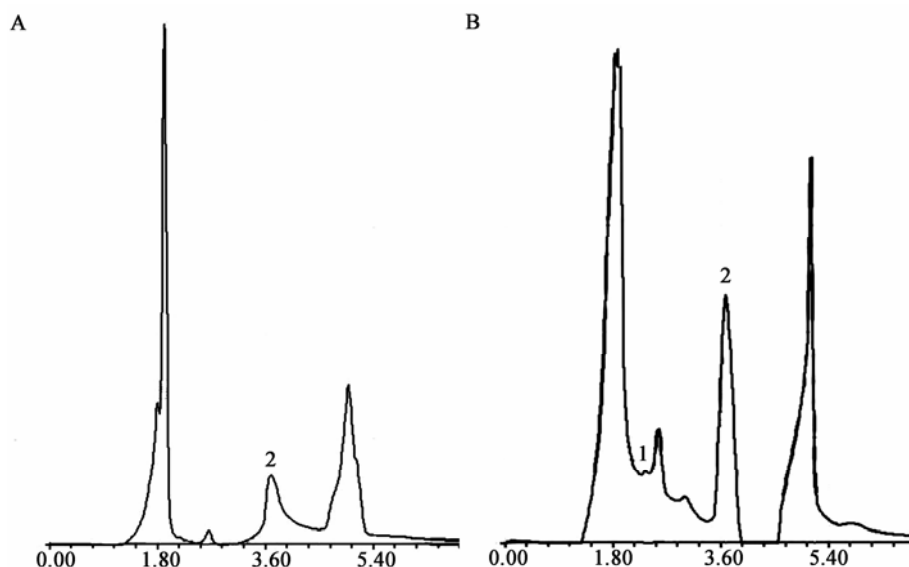


图7 溶藻特性物质的液相色谱测定

Figure 7 Algae-lysing substance determination with HPLC

注: A: 藻与溶藻菌共培养; B: 藻单独培养。

Note: A: Algicidal bacteria cocultured with algae; B: Algae cultured alone.

参考文献

- [1] Wu G, Xi Y, Zhao YJ. The latest development of research on algae-lysing bacteria[J]. Research of Environmental Sciences, 2002, 15(5): 43-46 (in Chinese)
吴刚, 席宇, 赵以军. 溶藻细菌研究的最新进展[J]. 环境科学研究, 2002, 15(5): 43-46
- [2] Daft MJ, McCord SB, Stewart WDP. Ecological studies on algal-lysing bacteria in fresh waters[J]. Freshwater Biology, 1975, 5(6): 577-596
- [3] Lee YK, Ahn CY, Kim HS, et al. Cyanobactericidal effect of *Rhodococcus* sp. isolated from eutrophic lake on *Microcystis* sp.[J]. Biotechnology Letters, 2010, 32(11): 1673-1678
- [4] Imai I, Ishida Y, Sakaguchi K, et al. Algicidal marine bacteria isolated from northern Hiroshima bay, Japan[J]. Fisheries Science, 1995, 61(4): 628-636
- [5] Kato J, Amie J, Murata Y, et al. Development of a genetic transformation system for an alga-lysing bacterium[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(6): 2061-2064
- [6] Peng C, Wu G, Xi Y, et al. Isolation and identification of three algae-lysing bacteria and their lytic effects on blue-green algae (Cyanobacteria)[J]. Research of Environmental Science, 2003, 16(1): 37-40 (in Chinese)
彭超, 吴刚, 席宇, 等. 3株溶藻细菌的分离鉴定及其溶藻效应[J]. 环境科学研究, 2003, 16(1): 37-40
- [7] Lovejoy C, Bowman JP, Hallegraeff GM. Algicidal effects of a novel marine *Pseudoalteromonas* isolate (class proteobacteria, gamma subdivision) on harmful algal bloom species of the Genera *Chattonella*, *Gymnodinium*, and *Heterosigma*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(8): 2806-2813
- [8] Chow CWK, Drikas M, House J, et al. The impact of conventional water treatment processes on cells of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*[J]. Water Research, 1999, 33(15): 3253-3262
- [9] Mayali X, Doucette GJ. Microbial community interactions and population dynamics of an algicidal bacterium active against *Karenia brevis* (Dinophyceae)[J]. Harmful Algae, 2002, 1(3): 277-293
- [10] Li YH, Pu YP, Yin LH, et al. Algae-lytic effect of algicidal bacteria immobilized on Fe₃O₃ nanoparticles[J]. Journal of Southeast University (Natural Science Edition), 2006, 36(6): 986-990 (in Chinese)
李云晖, 浦跃朴, 尹立红, 等. 氧化铁纳米颗粒固定化溶藻菌的除藻作用[J]. 东南大学学报: 自然科学版, 2006, 36(6): 986-990
- [11] Guo J, Pu YP, Yin LH, et al. Isolation and evaluation of algicidal bacteria from Taihu Lake[J]. Journal of Southeast University (Natural Science Edition), 2006, 36(2): 293-297 (in Chinese)
郭吉, 浦跃朴, 尹立红, 等. 太湖溶藻细菌的分离及评价[J]. 东南大学学报: 自然科学版, 2006, 36(2): 293-297
- [12] Jin LN, Zhang WH, Zheng L, et al. Biodegradation of microcystin in Dianchi Lake aquatic environment[J]. China Environmental Science, 2002, 22(2): 189-192 (in Chinese)
金丽娜, 张维昊, 郑利, 等. 滇池水环境中微囊藻毒素的生物降解[J]. 中国环境科学, 2002, 22(2): 189-192
- [13] Kong Y, Miao LH, Zhu L, et al. Effects of algae-lysing *Streptomyces* on the competition between *Microcystis aeruginosa* and *Chlorella pyrenoidosa*[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2010, 19(11): 2657-2662 (in Chinese)
孔贇, 缪礼鸿, 朱亮, 等. 溶藻放线菌对铜绿微囊藻和小球藻竞争生长的影响[J]. 生态环境学报, 2010, 19(11): 2657-2662
- [14] Kong Y, Zhu L, Qi JQ, et al. Characteristics of algae removal and nitrogen removal from micro-polluted source water by algae-lysing bacterium[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2012, 21(8): 1440-1446 (in Chinese)
孔贇, 朱亮, 戚姣琴, 等. 溶藻菌对受污染水源水除藻及脱氮

氮特性研究[J]. 生态环境学报, 2012, 21(8): 1440-1446

[15] Weng JZ, Xu HS. Chinese Common Freshwater Planktonic Algae[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2010 (in Chinese)

翁建中, 徐恒省. 中国常见淡水浮游藻类图谱[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2010

[16] Xu LL. Hydrogen production improvement by means of co-cultivation of *Chlamydomonas reinhardtii* and *Bradyrhizobium japonicum* and its eco-physiological mechanisms[D]. Shanghai: Doctoral Dissertation of East China Normal University, 2014 (in Chinese)

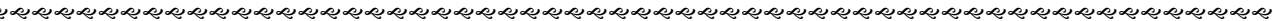
许丽丽. 莱茵衣藻与根瘤菌共培养提高产氢及其生理生态学机理[D]. 上海: 华东师范大学博士学位论文, 2014

[17] Banin E, Khare SK, Naider F, et al. Proline-rich peptide from the coral pathogen *Vibrio shiloi* that inhibits photosynthesis of *Zooxanthellae*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(4): 1536-1541

[18] Subashchandrabose SR, Ramakrishnan B, Megharaj M, et al. Consortia of cyanobacteria/microalgae and bacteria: biotechnological potential[J]. Biotechnology Advances, 2011, 29(6): 896-907

[19] Zhao P. Study on the isolation of oleaginous microalgae and their co-cultivation[D]. Kunming: Doctoral Dissertation of Yunnan Normal University, 2014 (in Chinese)

赵鹏. 产油微藻的分离及藻-藻共培养的研究[D]. 昆明: 云南师范大学博士学位论文, 2014



2016 年中国微生物学会及各专业委员会学术活动计划表(2-2)

序号	会议名称	主办/协办单位	时间	人数	地点	联系方式
13	第七届中国微生物学大会暨生物学与免疫学论坛	中国微生物学会临床微生物学专业委员会	9 月	400	待定	王苗苗 18758810661
14	2016 年全国青年病毒学者学术年会	中国微生物学会病毒学专业委员会	9 月	200	待定	吴莹 010-64807688
15	首届临床微生物学与医院感染论坛	中国微生物学会临床微生物学专业委员会	9 月	350	待定	王苗苗 18758810661
16	2016 年微生物与人类健康学术研讨会	中国微生物学会医学微生物学与免疫学专业委员会	9 月	200	上海	胡福泉 13594616136
17	第十一届中国微生物学会兽医微生物学专业委员会委员会议	中国微生物学会兽医微生物学专业委员会	10 月	400	待定	丁家波 13683505108
18	第十三届国际工业微生物遗传学大会	中国微生物学会	10 月 16-20 日	400	湖北武汉	孙雪 027-68756642
19	2016 年中国微生物学会学术年会	中国微生物学会	10 月	600	陕西西安	杨海花 010-64807200
20	食品酿造技术与产业发展学术报告会	中国微生物学会酿造分会	10 月	200	广东汕头	张秀梅 13503213265
21	第 14 届中日韩国际酶工程学术会议	中国微生物学会酶工程专业委员会	11 月	200	广西南宁	欧阳浩森 010-64807420
22	第十九次全国环境微生物学学术研讨会	中国微生物学会环境微生物学专业委员会	11 月	500	重庆	蒋建东 13915976780
23	中国微生物与白酒酿造技术研讨会	中国微生物学会工业微生物学专业委员会	12 月	200	待定	010-53218310
24	第六届全国微生物基因组学学术研讨会	中国微生物学会农业微生物学专业委员会	12 月	200	海南乐东	吴悦 027-87287254