

海洋溶藻菌假交替单胞菌(*Pseudoalteromonas* sp.) J75 的分离鉴定及溶藻作用

金宇阳^{1,2#}, 贾阳^{1,2,3#}, 徐汉卿^{1,2,4}, 林立东^{3*}, 赵敏^{1,2}, 马增岭^{1,2*}

1 温州大学 生命与环境科学学院, 浙江 温州

2 温州大学, 城镇水污染生态治理技术国家地方联合工程研究中心, 浙江 温州

3 温州市洞头区海洋经济科技创新中心博士后工作站, 浙江 温州

4 闽江学院, 福建省海洋生物多样性保护与永续利用重点实验室, 福建 福州

金宇阳, 贾阳, 徐汉卿, 林立东, 赵敏, 马增岭. 海洋溶藻菌假交替单胞菌(*Pseudoalteromonas* sp.) J75 的分离鉴定及溶藻作用[J]. 微生物学报, 2025, 65(4): 1542-1557.

JIN Yuyang, JIA Yang, XU Hanqing, LIN Lidong, ZHAO Min, MA Zengling. Isolation, identification, and algicidal characterization of the marine algicidal strain *Pseudoalteromonas* sp. J75[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2025, 65(4): 1542-1557.

摘要:【目的】从温州东海海域分离获得溶藻细菌, 对其进行鉴定并研究其溶藻特性及溶藻机制, 以为赤潮的微生物治理提供坚实的科学基础。【方法】通过形态学分析、生理生化特征鉴定以及 16S rRNA 基因序列分析对菌株进行初步鉴定。测定菌株的溶藻活性、环境因子对溶藻活性的影响, 以及溶藻特异性等溶藻特性。通过电镜观察、光合参数测定、藻细胞内活性氧和丙二醛含量测定以及抗氧化酶活性检测等方法, 初步探究其溶藻机制。【结果】溶藻菌株 J75 被鉴定为假交替单胞菌(*Pseudoalteromonas* sp.), 36 h 内对中肋骨条藻的溶藻率可达 95.97%。菌株 J75 通过分泌胞外溶藻物质实现间接溶藻, 溶藻物质在 -20–80 °C、pH 5.0–9.0 条件下均能保持良好的溶藻效果。菌株 J75 对米氏凯伦藻、微小原甲藻和球形棕囊藻均表现出溶藻活性。在 J75 无菌滤液的胁迫下, 藻细胞的形态结构发生破坏, 光合活性严重下降, 活性氧含量升高, 膜脂过氧化损伤加剧, 超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、过氧化物酶的活性均有所升高, 谷胱甘肽含量也明显升

资助项目: 温州市基础性科研项目(S2023008, G2023040); 洞头区科技计划(N2022Y03, N2024Y08); 教育部产学研合作教育项目(230700915175014); 闽江学院福建省海洋生物多样性保护与永续利用重点实验室开放课题(CSUMBL2023-1); 农业农村部藻类产业技术体系(CARS-50); 温州大学研究生科研基金(3162024003055); 温州大学实验室开放项目(JWSK2024044, JWSK2024046)

This work was supported by the Basic Scientific Research Project of Wenzhou (S2023008, G2023040), the Science and Technology Planning of Dongtou District (N2022Y03, N2024Y08), the Ministry of Education Industry-University Cooperation Collaborative Education Project (230700915175014), the Open Project of Fujian Key Laboratory on Conservation and Sustainable Utilization of Marine Biodiversity (Minjiang University) (CSUMBL2023-1), the Algal Industry Technology System of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs (CARS-50), the Graduate Scientific Research Foundation of Wenzhou University (3162024003055), and the Open Project of Wenzhou University Laboratory (JWSK2024044, JWSK2024046).

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding authors. E-mail: LIN Lidong: rsclinlidong@126.com; MA Zengling: mazengling@wzu.edu.cn

Received: 2024-11-13; Accepted: 2025-01-21; Published online: 2025-02-28

高, 表明溶藻细菌引起了藻细胞的氧化损伤, 最终导致藻死亡。【结论】海洋溶藻假交替单胞菌 J75 通过分泌溶藻物质能够有效抑制多种赤潮微藻生长, 在赤潮防治方面具有广阔的应用前景, 对其溶藻特性和溶藻机制的探究为赤潮的治理提供了重要的理论依据。

关键词: 中肋骨条藻; 溶藻细菌; 分离鉴定; 溶藻特性; 溶藻机制

Isolation, identification, and algicidal characterization of the marine algicidal strain *Pseudoalteromonas* sp. J75

JIN Yuyang^{1,2#}, JIA Yang^{1,2,3#}, XU Hanqing^{1,2,4}, LIN Lidong^{3*}, ZHAO Min^{1,2}, MA Zengling^{1,2*}

1 College of Life and Environmental Science, Wenzhou University, Wenzhou, Zhejiang, China

2 National and Local Joint Engineering Research Center of Ecological Treatment Technology for Urban Water Pollution, Wenzhou University, Wenzhou, Zhejiang, China

3 Post-doctor Workstation of Wenzhou Dongtou District Marine Economic Science and Technology Innovation Center, Wenzhou, Zhejiang, China

4 Fujian Key Laboratory on Conservation and Sustainable Utilization of Marine Biodiversity, Minjiang University, Fuzhou, Fujian, China

Abstract: [Objective] This study isolated and identified an algicidal bacterium from the East China Sea near Wenzhou and investigated its algicidal characteristics and mechanisms, aiming to contribute a solid scientific basis to the microbial control against red tides. [Methods] The strain was identified by morphological observation, physiological and biochemical tests, and 16S rRNA gene sequence analysis. The algicidal characteristics such as algicidal activity, influences of environmental factors on the algicidal activity, and algicidal specificity were assessed. The algicidal mechanism was explored by electron microscopy, measurements of photosynthetic parameters, and determination of reactive oxygen species (ROS) and malondialdehyde levels and antioxidant enzyme activities. [Results] The algicidal strain J75 was identified as *Pseudoalteromonas* sp. The algicidal rate of strain J75 against *Skeletonema costatum* reached 95.97% within 36 h. Strain J75 induced lysis of algal cells indirectly by secreting extracellular algicidal substances, maintaining the algicidal activity across broad ranges of temperatures (−20 °C to 80 °C) and pH levels (5.0 to 9.0). In addition, strain J75 demonstrated algicidal activities against other harmful microalgae, including *Karenia mikimotoi*, *Prorocentrum minimum*, and *Phaeocystis globosa*. Under the stress of J75 cell-free supernatant, the algal cells showed morphological structure damage, a significant decrease in the photosynthetic activity, elevations in the levels of ROS, membrane lipid peroxidation, activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase, and the level of glutathione. These results indicated that strain J75 caused oxidative damage to algal cells, ultimately leading to algal death. [Conclusion] The marine algicidal bacterium *Pseudoalteromonas* sp. J75, which holds significant potential for the control of red tides, demonstrates its efficacy by secreting algicidal compounds that inhibit the growth of diverse red tide microalgae. The

exploration of the algicidal characteristics and mechanisms of this strain provides a theoretical basis for advancing red tide management strategies.

Keywords: *Skeletonema costatum*; algicidal bacteria; isolation and identification; algicidal characteristics; algicidal mechanism

近几十年来, 由于水体富营养化不断加剧, 赤潮在全球范围内频繁发生^[1-2], 直接威胁着海洋生态系统的稳定、海洋生物资源的可持续利用以及水产养殖业等海洋产业的健康发展, 同时也对人类健康构成了严重威胁^[3-4]。中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*)是我国沿海水域的典型赤潮藻之一, 属于广温、低盐的浮游硅藻, 其繁殖速率快、适应能力强, 广泛分布于我国黄海^[5]、东海^[6]等海域, 并多次引发赤潮。其他国家和地区的海域也频繁报道中肋骨条藻赤潮的暴发, 此外, 东京湾^[7]、韩国南海岸^[8]、英国南开普敦港^[9]及美国北卡罗来纳州^[10]等海域也频繁报道了中肋骨条藻赤潮的暴发。

海洋环境中的异养细菌与浮游植物之间存在着密切的关系, 一些藻际细菌与赤潮的暴发及消亡过程紧密相关, 可能是调控赤潮生消的关键因素之一^[11-12]。随着藻-菌关系的深入研究, 许多对赤潮藻具有溶藻作用的细菌已从沿海藻华水体中分离获得^[13-15]。目前, 研究人员在溶藻细菌的分离及溶藻特性方面进行了诸多探索, 并获得了一些高效的溶藻细菌。这些溶藻菌主要源于芽孢杆菌门(*Bacillota*)、放线菌门(*Actinomycetota*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)和假单胞菌门(*Pseudomonadota*)^[16-19]。这些溶藻菌能够对一种或多种藻类产生影响, 其溶藻作用方式主要分为两大类: 直接作用和间接作用。直接作用方式需要细菌和藻细胞进行物理接触, 有些溶藻菌会进入藻细胞内部造成细胞裂解死亡。更多的已报道溶藻细菌是通过间接作用来杀灭藻细胞, 即细菌通过营养竞争、释放化合物杀死藻细胞或使藻类发生絮凝达到除藻目的。目

前已鉴定的溶藻化合物包括灵菌红素^[20]、几丁质酶^[21]、活性肽^[22]、三萜皂苷^[23]、二酮哌嗪^[24]、鼠李糖脂^[25]、色氨酸和色胺^[26]等。溶藻菌的溶藻机制多种多样, 不同溶藻菌的溶藻机制差异较大, 主要归结为抑制藻类光合作用、对藻细胞产生氧化损伤、引起胞内结构损伤以及影响细胞基因表达等^[27-29]。目前, 我们对于溶藻菌的认知仍不够充分, 利用微生物方法对赤潮进行治理还存在许多不足。因此, 我们应尽可能丰富可用于赤潮治理的菌种资源库, 增加菌种资源储备。同时, 鉴于溶藻菌对藻类作用机制的多样性, 应对溶藻菌的作用范围、特性以及其与赤潮微藻的相互作用机制进行充分研究, 为其菌剂制备和实际应用奠定理论基础。

本研究从温州附近的东海海域分离到一株对中肋骨条藻具有较高杀藻活性的溶藻细菌, 对该菌种进行了鉴定, 探究了其杀藻特性, 并初步阐释了其溶藻机制, 旨在为深入研究赤潮过程中的藻-菌关系以及开发高效的溶藻菌剂提供良好的材料和研究基础。

1 材料与方法

1.1 藻种来源和培养

中肋骨条藻(*Skeletonema costatum*) GY-H69、米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*) GY-H36、微小原甲藻(*Prorocentrum minimum*) GY-H38 和球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*) GY-H37 均购自上海光语生物科技有限公司。藻种经活化后采用 f/2 培养基培养^[30], 培养条件为温度 22 °C, 光照强度 66 $\mu\text{mol}/(\text{m}\cdot\text{s})$, 光暗周期 12 h:12 h。实验开始前, 在藻液中加入卡那霉素、氨苄青霉素、链

霉素、氯霉素、羧苄青霉素和庆大霉素进行抗生素预处理以去除藻际细菌对实验的影响, 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 溶藻菌的分离与鉴定

从温州洞头沿海采集不同区域的海水, 用无菌海水稀释 10^2 、 10^4 、 10^6 和 10^8 后分别取 100 μL 涂布于 2216E 培养基平板上。平板在培养箱中 28 $^{\circ}\text{C}$ 培养至菌落形成后, 挑选具有不同形态和颜色的菌落, 转接至新的平板进行划线纯化, 每株纯化 2 次, 获得纯化后的菌株。为了筛选溶藻菌, 将活化好的菌液按 5% 的体积比加入处于指数生长期 (叶绿素浓度约为 490 $\mu\text{g/L}$) 的藻液中, 同时添加相同体积的 2216E 液体培养基作为对照。使用 Phyto-PAM 测定叶绿素 a 的含量, 以计算溶藻能力, 溶藻率的计算如公式(1)所示。

$$\text{溶藻率} = (1 - C_{\text{处理组}}/C_{\text{对照组}}) \times 100\% \quad (1)$$

式中: $C_{\text{处理组}}$ 为处理组的叶绿素 a 浓度, $C_{\text{对照组}}$ 为对照组的叶绿素 a 浓度。

对具有溶藻活性的菌株进行形态观察、生理生化检测和 16S rRNA 基因序列分析。使用显微镜观察菌体形态特征, 生理生化检测采用 Lu 等的方法进行^[31]。将菌株接种于 2216E 培养基中 28 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 培养 12 h 后, 使用 TIANamp Bacteria DNA Kit[天根生化科技(北京)有限公司]提取菌株的基因组 DNA, 利用通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3')^[32] 进行 PCR 扩增, 获得溶藻细菌的 16S rRNA 基因序列片段。PCR 反应体系 (25 μL): 2 $\times$ T5 Super PCR Mix 12.5 μL , 上、下游引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 1 μL , DNA 模板 1 μL , ddH₂O 9.5 μL 。PCR 反应条件: 98 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 98 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 15 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s, 35 个循环;

72 $^{\circ}\text{C}$ 终延伸 5 min。将扩增纯化后的 16S rRNA 基因片段插入 pMD19-T 载体中, 重组质粒送往生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。使用 NCBI 中的 BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>) 进行序列比对, 利用 MEGA 7 软件对序列比对结果采用邻接法构建系统发育树。

1.3 溶藻菌株生长曲线的测定

将分离的溶藻细菌接种于 2216E 液体培养基中, 28 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 进行振荡培养。每 1 h 或 2 h 测定菌液在 600 nm 处的吸光度值, 将吸光度值与其对应的培养时间进行作图获得菌株生长曲线。通过平板计数法测定菌株培养 24 h 后的浓度。

1.4 溶藻方式测定

将菌接种到 2216E 液体培养基中, 在 28 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 条件下培养 24 h。培养后的菌液以 8 000 r/min 离心 3 min, 将上清液用 0.22 μm 滤膜过滤, 所得滤液为无细胞上清液。将去除上清液的菌体沉淀, 用等体积的 2216E 培养基重悬 2 次, 得到菌体重悬液。向处于指数生长期 (叶绿素浓度约为 490 $\mu\text{g/L}$) 的中肋骨条藻中分别添加体积分数为 5% 的溶藻菌的菌液、上清液和菌体重悬液作为处理组, 加入等体积 2216E 液体培养基的样品作为对照组。分别在 0、12、24、36、48 h 对其叶绿素 a 含量进行测定, 计算溶藻率。

1.5 溶藻特性分析

1.5.1 溶藻活性测定

将菌株 J75 接种到 2216E 液体培养基中, 在 28 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 条件下培养 24 h, 将培养好的 J75 菌液分别以体积分数 1%、3%、5% 和 7% 加入处于指数生长期 (叶绿素 a 浓度约 490 $\mu\text{g/L}$) 的中肋骨条藻培养物中, 分别在 12、24、36 h 对其叶绿素 a 含量进行测定, 计算溶藻率。此外, 分别收集培养 6 h 和 24 h 的菌

液,按不同浓度(体积分数 1%、3% 和 5%)分别添加至指数生长期(叶绿素浓度约为 490 $\mu\text{g/L}$)的中肋骨条藻中,分别在 6 h 和 24 h 对其叶绿素 a 含量进行测定,计算溶藻率。

1.5.2 不同环境因子对溶藻效应的影响

将溶藻细菌培养 24 h 的上清液分别置于 -20、0、20、40、60、80 和 100 $^{\circ}\text{C}$ 环境下处理 2 h,然后使上清液温度恢复至室温。将处理后的上清液以 5% 的浓度添加至中肋骨条藻藻液中进行溶藻实验,添加相同体积的 2216E 培养基作为对照。24 h 后测定对照组和处理组的叶绿素 a 含量,计算溶藻率。

将溶藻细菌上清液通过 HCl 或 NaOH 溶液调节其 pH 分别至 1.0、3.0、5.0、7.0、9.0、11.0 和 13.0,静置 2 h,然后调回到初始 pH 7.0。将处理过的上清液以 5% 的浓度添加至中肋骨条藻藻液中进行溶藻实验,添加相同体积的 2216E 培养基作为对照。24 h 后测定对照组和处理组的叶绿素 a 含量,计算溶藻率。

1.5.3 溶藻特异性分析

对溶藻菌的溶藻特异性进行分析,涉及的常见赤潮藻类包括米氏凯伦藻、微小原甲藻和球形棕囊藻。将菌株 J75 接种到 2216E 液体培养基中,在 28 $^{\circ}\text{C}$ 、180 r/min 条件下培养 24 h。分别将溶藻菌上清液以 5% 与藻液共培养 24 h,以直接加入等体积 2216E 液体培养基的样品作为对照,计算溶藻率。

1.6 溶藻机制初步研究

1.6.1 电镜观察

将溶藻细菌上清液与中肋骨条藻共培养 24 h 后,将藻液在 8 000 r/min 下离心 5 min,收集到的藻细胞在含有 2.5% 戊二醛的溶液中于 4 $^{\circ}\text{C}$ 固定过夜。随后,使用 PBS (0.1 mol/L, pH 7.4)漂洗样品 3 次,再使用梯度浓度的乙醇(30%、50%、70%、80%、90%、95% 和 100%)

对样品进行脱水处理。随后,使用乙酸异戊酯对样品进行置换处理 2 次。最后,使用冷冻干燥机干燥样品,经喷金处理后使用扫描电镜进行观察。

1.6.2 藻细胞光合系统参数测定

通过 Phyto-PAM 测定中肋骨条藻在 J75 上清液(5%)胁迫下不同时间点(0、12、24、36、48、60 h)的光合参数变化,包括叶绿素 a 含量、 F_v/F_m (最大光化学量子产量)、 $rETR_{\max}$ (最大电子传递速率)以及 α (光能转化效率)。测量前,样品在黑暗中暗适应 10 min。

1.6.3 藻细胞内活性氧、丙二醛含量及抗氧化酶活性测定

向中肋骨条藻中分别添加 2.5%、5%、10% 溶藻菌上清液共培养 24 h,以添加相同体积的 2216E 培养基作为对照。24 h 后收集样品,每个样品以 6 000 r/min 离心 5 min 收集藻细胞,用无菌 PBS (0.1 mol/L, pH 7.4)洗涤 3 次。然后将细胞重悬于 500 μL 无菌 PBS 中,藻细胞用 0.9 mm 铅珠在细胞组织破碎仪中破碎 6 个周期(6.5 m/s,工作时间 60 s,间隔时间 60 s)。藻细胞破碎后,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 、6 000 r/min 离心 5 min,去除藻细胞碎片,取上清待测。按照检测试剂盒(南京建成生物工程研究所)所提供的方法对上清液中活性氧(reactive oxygen species, ROS)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)、过氧化物酶(oxidase, POD)含量进行测量。总蛋白含量采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定。

1.7 统计分析

数据结果以平均值 $\pm$ 标准差表示,利用 SPSS 软件进行方差分析,所得结果采用 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行分析和作图。

2 结果与分析

2.1 溶藻细菌 J75 的分离与鉴定

从洞头海域采集的水样中, 经过分离纯化共得到了 90 株菌株。通过与中肋骨条藻共培养进行筛选, 获得了 1 株对中肋骨条藻具有良好

溶藻效果的菌株, 将其编号为 J75。菌株 J75 的菌落呈圆形, 淡黄色, 略微突起, 边缘较为光滑(图 1)。扫描电镜观察结果显示, 菌株 J75 的菌体细长, 呈长杆状, 无鞭毛。菌株 J75 基于 16S rRNA 基因序列(NMDCN00069V1)经同源性比对和系统发育分析表明, 菌株 J75 与俄罗斯假

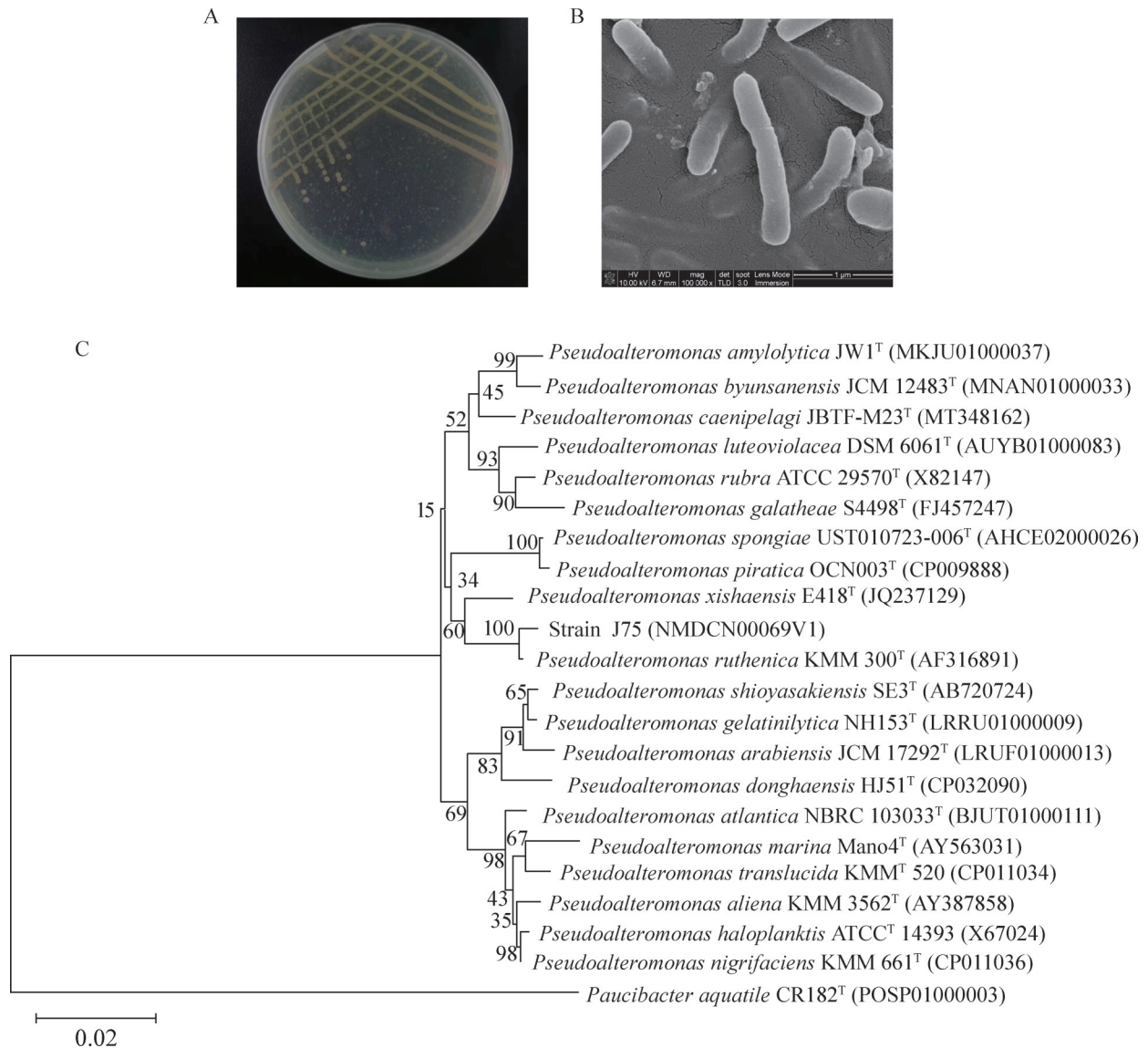


图1 菌株J75的形态学分析和系统发育树

Figure 1 Morphological characteristics and phylogenetic identification of strain J75. A: Morphological observation of the strain; B: Observation of the strain using a scanning electron microscope (SEM); C: Phylogenetic tree analysis of the strains. Numbers at the branch points indicate the bootstrap value; Scale bar indicates the estimated number of base changes per nucleotide sequence position.

交替单胞菌 (*Pseudoalteromonas ruthenica*) KMM 300^T 的 16S rRNA 基因序列一致性最高 (99.66%)。结合形态学观察、生理生化特征 (表 1) 和分子生物学鉴定, 将菌株 J75 初步命名为假交替单胞菌 (*Pseudoalteromonas* sp.) J75。

2.2 溶藻菌株 J75 的生长曲线

将溶藻细菌 J75 以 1% 的接种量接种于 2216E 液体培养基中, 28 °C、180 r/min 条件下培养, 定时使用分光光度计在 600 nm 处测量菌液的吸光度值, 从而绘制出其生长曲线。0–2 h 为 J75 的停滞期, 2–12 h 为对数期, 12 h 后细菌进入稳定期。通过平板计数法测定菌株在培养 24 h 后的浓度为 5.76×10^8 CFU/mL。

2.3 溶藻菌株 J75 的溶藻方式

为了探究菌株 J75 的溶藻方式, 分别将菌液、菌体重悬液和无菌上清液分别以 5% 加入到中肋骨条藻的培养液中进行共培养, 结果如图 2 所示, 菌株 J75 的无菌上清液具有与菌液相同的

表1 菌株J75的生理生化特性

Table 1 Physiological and biochemical characteristics of the strain J75

Items	Results
Methyl red test	–
Gram stain	–
Starch hydrolysis	+
Catalase test	+
V-P test	+
Oxidase test	+
Carbon sources	
D-mannitol	+
D-glucose	+
D-sucrose	+
D-fructose	+
D-maltose	+
D-lactose	+

+: Positive result; -: Negative result.

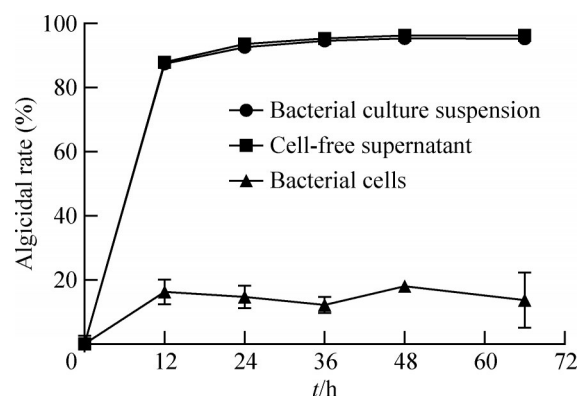


图2 菌株J75不同组分对中肋骨条藻的溶藻效率

Figure 2 Algicidal rate of different fractions of J75 cultures against *Skeletonema costatum*.

溶藻效果。在共培养 12 h 以后, 上清液和菌体重悬液对中肋骨条藻的溶藻率均达到 87% 以上, 共培养 48 h 以后溶藻率超过了 95%, 而菌体表现出不到 20% 的杀藻活性, 溶藻率远低于其他两组。上述结果表明菌株 J75 主要通过分泌溶藻物质来进行杀藻。

2.4 溶藻菌株 J75 的溶藻特性分析

2.4.1 不同浓度 J75 菌液对中肋骨条藻的溶藻活性

将菌株 J75 培养液与中肋骨条藻进行共培养后, 发现溶藻率随菌液浓度和处理时间的增加而显著上升, 呈现出明显的剂量效应关系。如图 3 所示, 在共培养 24 h 时, 3%、5%、7% 处

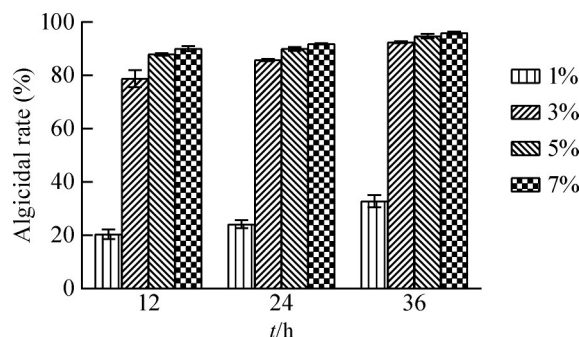


图3 不同浓度J75菌液对溶藻活性的影响

Figure 3 Effects of different inoculation dosage of J75 culture on algicidal activity.

理组的抑制率显著高于 1% 处理组。1% 处理组在共培养 36 h 时的溶藻率仅为 32.80%，而 3%、5%、7% 处理组的溶藻活性在 36 h 后分别达到 92.49%、94.74%、95.97%。发酵时间对溶藻活性的影响结果显示，24 h 发酵组的抑制率显著高于 6 h 组，表明发酵时间的延长在一定程度上有利于提升上清液中溶藻物质的活性含量(图 4)。综上所述，菌株 J75 对中肋骨条藻的溶藻活性具有剂量依赖性且其溶藻活性物质在细菌培养过程中累积。

2.4.2 温度对溶藻效应的影响

菌株 J75 上清液在-20~80 °C 具有很高的热稳定性，但在 100 °C 条件下活性显著降低。如图 5 所示，在-20、0、20、40、60、80 °C 孵育 2 h 后，菌株 J75 上清液仍保持 74.00% 以上的溶藻率。在 100 °C 孵育后，菌株 J75 上清液的溶藻活性降低，溶藻率仅为 23.74%。菌株 J75 上清液在一定温度范围(-20~80 °C)内都保持了较高的溶藻活性，表明菌株 J75 合成的溶藻物质具有较好的温度耐受性。

2.4.3 pH 对溶藻效应的影响

不同 pH 值对溶藻菌 J75 溶藻效果的影响如图 6 所示，溶藻菌 J75 上清液的溶藻活性在 pH 5.0~9.0 的范围内仍然保持了较高的水平，在 pH

值为 5.0、7.0、9.0 时，菌株 J75 上清液的溶藻率分别为 71.78%、72.85%、70.68%。在强酸或强碱条件下，溶藻活性或显著降低。当 pH 值为 3.0 时，菌株 J75 上清液的溶藻率为 58.67%；当 pH 值为 13.0 时，溶藻率降至 45.98%。上述结果表明，J75 上清液在一定 pH 范围内溶藻效果较为稳定，其较高的 pH 耐受性使其在控制赤潮方面具有潜在的应用价值。

2.4.4 溶藻菌 J75 对不同赤潮藻的溶藻特异性

为了探究菌株 J75 对不同种类赤潮藻的溶藻特异性，将 J75 上清液与多种藻种分别共培养 72 h，结果表明菌株 J75 对米氏凯伦藻、微小原甲藻和球形棕囊藻均具有显著的溶藻作用(图 7)，说明菌株 J75 可能对包括硅藻、甲藻、金藻在内的多种赤潮微藻具有广泛的溶藻能力，因此在赤潮防治中方面展现出良好的应用前景，可以用于缓解包括中肋骨条藻赤潮在内的多种赤潮现象。

2.5 溶藻菌 J75 的溶藻机制研究

2.5.1 溶藻效果的显微观察

通过细胞形态观察可以直观地了解溶藻菌 J75 分泌的溶藻物质对藻细胞的损伤情况。在光学显微镜下观察藻细胞形态变化(图 8)，对照组

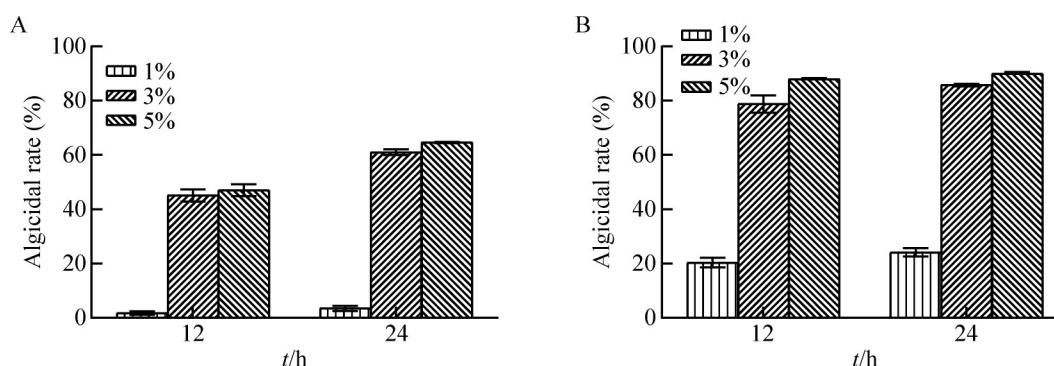


图4 不同生长阶段J75菌液对溶藻活性的影响

Figure 4 Effects of J75 culture at different growth phases on algicidal activity. A: Algicidal effect of 6 h fermentation culture; B: Algicidal effect of 24 h fermentation culture.

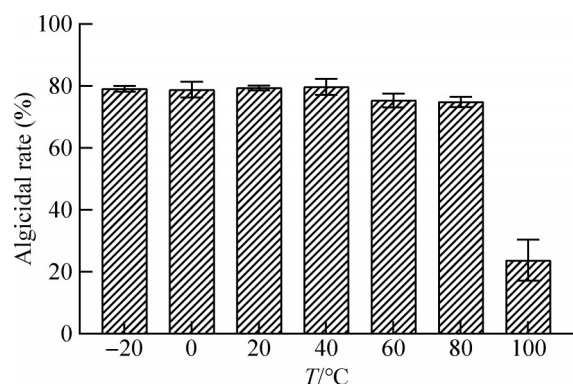


图5 不同温度对J75上清液溶藻活性的影响

Figure 5 Effects of different temperature on algicidal activity of J75 supernatant.

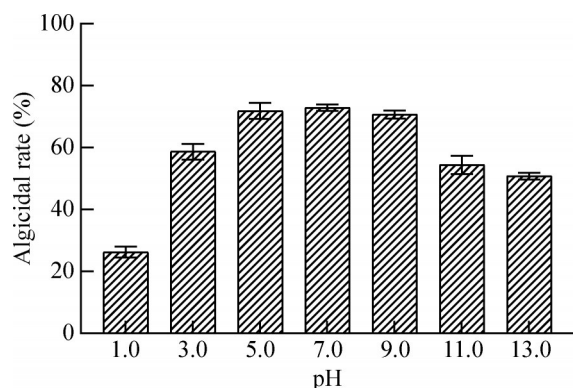


图6 不同pH对J75上清液溶藻活性的影响

Figure 6 Effects of different pH on algicidal activity of J75 supernatant.

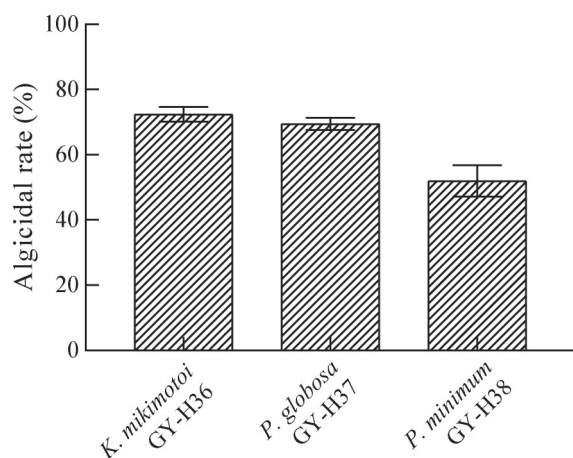


图7 J75对不同赤潮藻的溶藻效果

Figure 7 Algicidal effects of J75 on different red tide algae.

中的中肋骨条藻细胞形态结构完整。当藻液中加入 J75 上清液处理 24 h 后, 部分细胞已经失去完整性, 呈现出崩解死亡的状态。在扫描电子显微镜下观察, 对照组正常的中肋骨条藻单细胞呈圆柱状, 藻细胞通过连接刺连接成链状结构。然而, 经 J75 上清液处理 24 h 后, 藻细胞间的链状结构发生断裂, 部分细胞发生破裂降解, 藻细胞表面塌陷并严重变形, 硅质外壳破损, 细胞内容物流出, 细胞器缺失, 最终导致藻细胞死亡。上述研究表明菌株 J75 分泌的溶藻物质能够破坏藻细胞壁的结构导致藻细胞破裂, 胞内物质流出, 最终因无法维持正常的生命活动而死亡。

2.5.2 溶藻菌 J75 对中肋骨条藻光合系统的影响

为了探讨 J75 上清液对中肋骨条藻光合作用的影响, 研究了藻细胞叶绿素 a 含量、 F_v/F_m 、 α 和 $rETR_{max}$ 的变化。如图 9 所示, 在暴露于不同浓度的 J75 上清液后, 藻细胞中的叶绿素 a 含量在 24 h 开始显著下降, 3 个浓度处理组的叶绿素 a 含量较对照组均显著降低, 处理组含量从初始的 487.47 $\mu\text{g/L}$ 下降到 376.41 $\mu\text{g/L}$ 。藻细胞的 F_v/F_m 、 α 、 $rETR_{max}$ 值也随着处理浓度的增加而不断降低, 在处理 48 h 以后, 处理组的 F_v/F_m 值与对照组相比降低了 69%, α 和 $rETR_{max}$ 值也降低至接近 0。研究表明, 在 J75 上清液的作用下, 中肋骨条藻细胞的叶绿素 a 含量、 F_v/F_m 、 α 、 $rETR_{max}$ 均显著下降, 说明溶藻物质可能对藻细胞的类囊体膜造成了一定的损伤, 进而影响微藻的电子传递过程。

2.5.3 藻细胞活性氧及丙二醛含量

活性氧(ROS)作为细胞内的重要信号分子, 在光合生物中主要由光合作用和呼吸作用等代谢过程产生, 包括超氧自由基、过氧化氢及其下游产物(如过氧化物和羟化物等), 是氧化应激

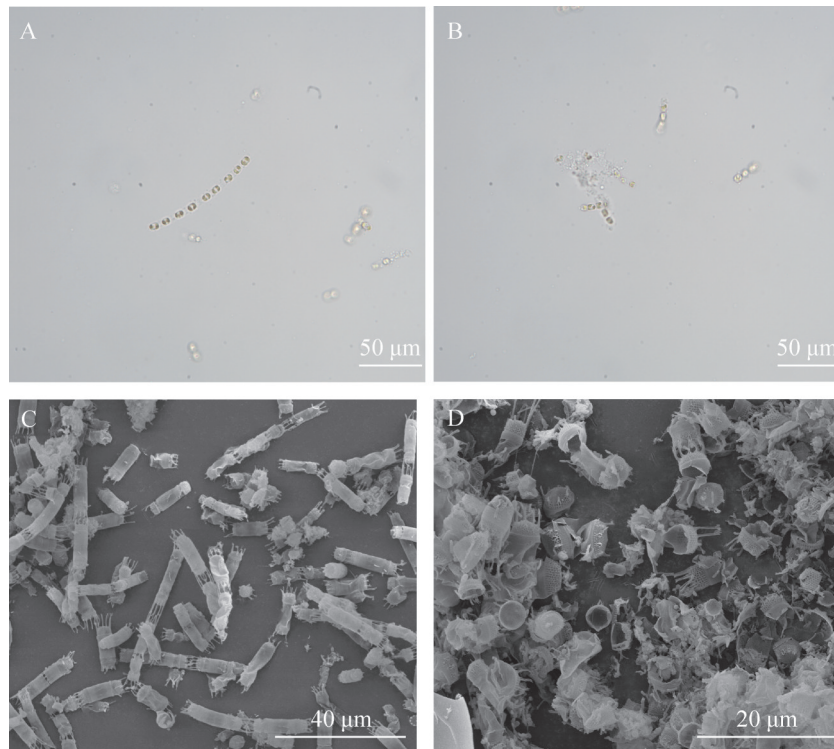


图8 中肋骨条藻细胞形态变化

Figure 8 Cell morphology variation of *Skeletonema costatum*. A: Algal cell morphology in control group observed under an optical microscope; B: Algal cell morphology in treatment group observed under an optical microscope; C: Algal cell morphology in control group observed under a scanning electron microscope (SEM); D: Algal cell morphology in treatment group observed under a scanning electron microscope (SEM).

的主要介质, ROS 的异常积累可引发细胞氧化损伤^[33]。如图 10 所示, 当不同浓度的 J75 上清液与中肋骨条藻共培养 24 h 后, 随着上清液浓度的增加, 中肋骨条藻细胞内的 ROS 水平升高, 2.5%、5% 和 10% 浓度处理组的 ROS 水平分别达到了对照组的 1.36 倍、1.18 倍和 1.89 倍, 显著差异于对照组。这证实了溶藻活性物质能够诱导中肋骨条藻产生氧化应激, 从而产生过量的 ROS。过量的 ROS 易导致细胞内脂质过氧化, 进而引起丙二醛(MDA)含量上升。本研究中, 中肋骨条藻在暴露于 J75 上清液 24 h 后, 2.5%、5% 和 10% 浓度处理组 MDA 含量也显著升高, 分别为对照组的 2.24 倍、2.52 倍和 5.45 倍, MDA 含量的增加表明, 菌株 J75 分泌的溶

藻物质导致了中肋骨条藻细胞膜脂质的过氧化, 增加了细胞膜的通透性, 进而影响藻细胞的正常生理功能。

2.5.4 藻细胞抗氧化酶活性分析

随着 J75 上清液浓度的增加, 中肋骨条藻中每毫克蛋白(mg prot)中含的 SOD、CAT、POD、GSH 酶活性均明显上升(图 11)。在 2.5%、5%、10% 浓度处理组中, SOD 的活性从初始的 10.76 U/mg prot 分别升高至 19.13、26.80、56.33 U/mg prot, POD 的活性从初始的 2.18 U/mg prot 分别升高至 4.54、4.64、8.61 U/mg prot, CAT 的活性从初始的 6.83 U/mg prot 分别升高至 10.60、4.82、11.33 U/mg prot, GSH 的活性从初始的 0.06 $\mu\text{mol/mg prot}$ 分别升高至 0.13、0.09、

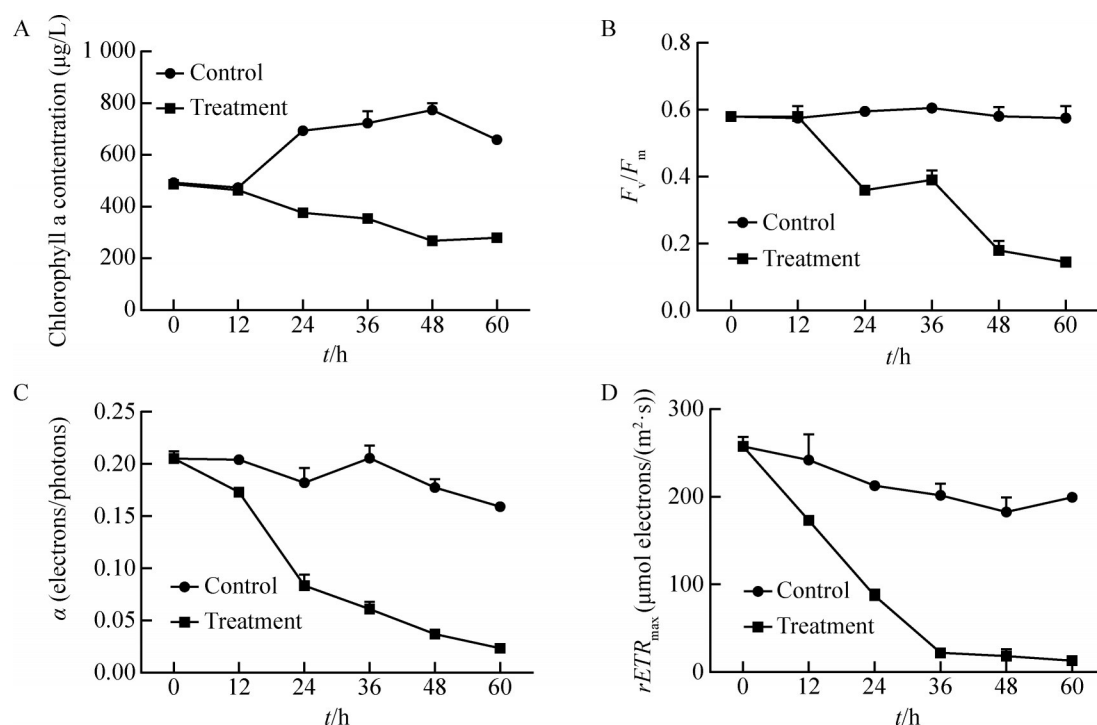


图9 溶藻细菌J75对光合系统的影响

Figure 9 Effects of the strain J75 on photosynthetic system. A: Changes in Chlorophyll a concentration in algal cells; B: Changes in F_v/F_m in algal cells; C: Changes in α in algal cells; D: Changes in $rETR_{\max}$ in algal cells.

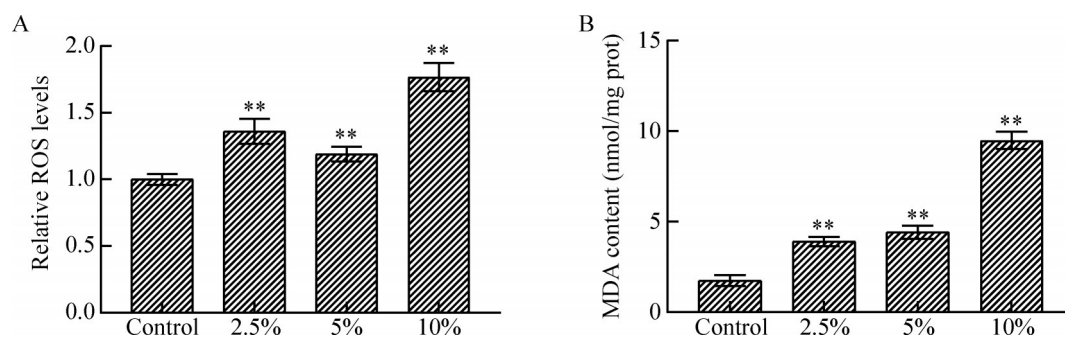


图10 中肋骨条藻活性氧和丙二醛含量变化

Figure 10 MDA content and ROS content variation of *Skeletonema costatum*. A: Changes in ROS levels in algal cells; B: Changes in MDA content in algal cells. **: $P < 0.01$.

0.23 $\mu\text{mol}/\text{mg prot}$ 。这些结果表明，在 J75 上清液的胁迫下，中肋骨条藻的抗氧化系统被激活，以保护藻细胞免受氧化损伤，但抗氧化系统无法应对 ROS 持续性地过量积累，最终导致藻细胞破裂死亡。结合 J75 对中肋骨条藻光合作用的影响，推测脂质过氧化可能加剧了类囊体膜的

破坏，进而加重了光合系统电子传递系统的损伤。在这种相互叠加的效应下，ROS 的积累加速，而藻细胞的抗氧化系统无法有效消除过量的 ROS。同时，藻细胞的细胞膜因受到过量 ROS 的损伤而通透性发生变化，进一步加速了藻细胞的死亡进程。

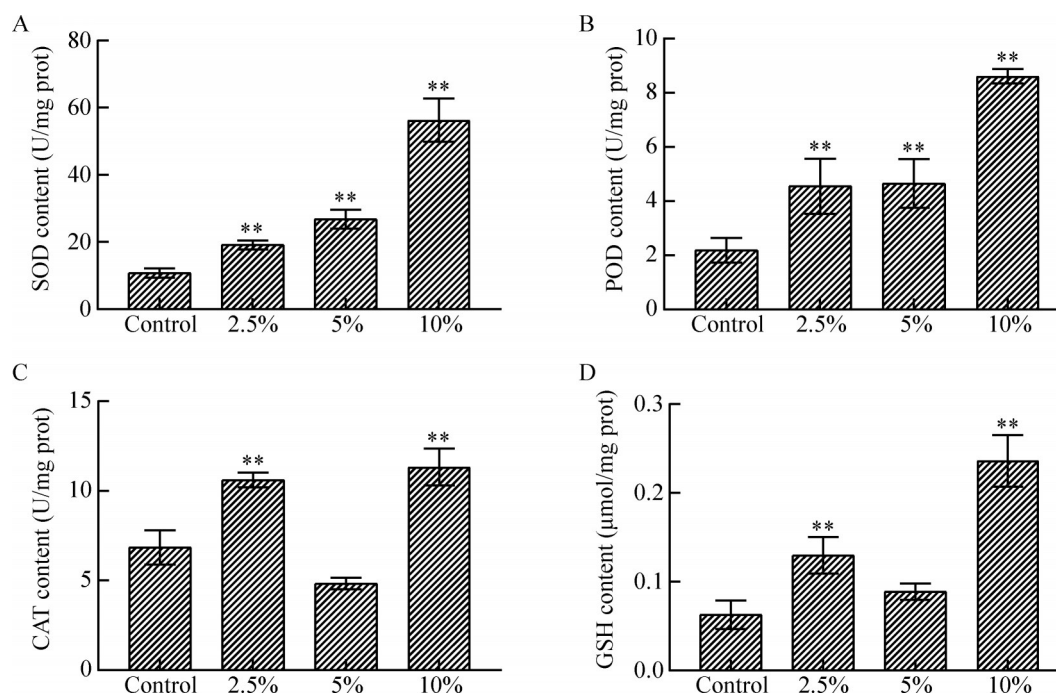


图11 中肋骨条藻抗氧化酶活性

Figure 11 Antioxidative enzyme activities of *Skeletonema costatum* cells. A: Changes in SOD content in algal cells; B: Changes in POD content in algal cells; C: Changes in CAT content in algal cells; D: Changes in GSH content in algal cells. **: $P < 0.01$.

3 讨论与结论

随着赤潮事件的频繁发生, 赤潮已成为最常见的海洋灾害之一。赤潮不仅对海洋环境造成严重危害, 还给海水养殖业和海洋渔业带来巨大的经济损失, 同时也会威胁人类健康甚至危及生命, 因此寻找行之有效的方法治理赤潮迫在眉睫^[34-35]。细菌和赤潮藻类在海洋环境中的联系十分密切, 某些海洋细菌能够促进或抑制微藻的生长繁殖, 进而可能有助于赤潮的缓解或终止。此外, 抑藻微生物还具有成本低廉、选择性强和环境友好等特点。因此, 利用海洋溶藻菌治理藻华, 不仅可以保持水体环境的相对稳定, 还具有高效、成本低和环境友好等优点, 展现出巨大的应用潜力。然而, 目前针对中肋骨条藻赤潮灾害的有效溶藻菌种资源仍然

十分有限。因此, 寻找多样化的针对中肋骨条藻赤潮灾害的有效溶藻菌株, 为赤潮的防控提供菌种资源具有重要的生物学意义。本研究从温州洞头附近的东海海域分离筛选到一株溶藻细菌 *Pseudoalteromonas* sp. J75, 对多种赤潮微藻具有显著的溶藻效应。

一般来说, 溶藻细菌的溶藻方式主要有2种: 直接溶藻和间接溶藻。直接溶藻是指在溶藻过程中, 溶藻细菌直接接触藻细胞使藻细胞死亡, 即直接攻击宿主^[36-37]。间接溶藻, 则不需要细胞和细胞之间的接触, 主要通过以下2种方式实现: (1) 细菌与藻竞争环境中有限的营养成分, 从而抑制藻类的正常生长^[38]; (2) 细菌分泌具有溶藻作用的胞外物质进行溶藻^[39]。其中, 细菌通过产生和释放胞外溶藻物质进行抑藻是溶藻细菌作用于藻细胞的主要方式, 也

是目前研究较多的方向。探索溶藻细菌的溶藻方式,不仅有助于揭示细菌溶藻的机理,还能作为开发高效杀藻剂提供科学依据。在本研究中,菌株 J75 的上清液表现出与 J75 菌液相似的溶藻活性,而菌体本身对藻细胞并未表现出明显的细胞毒性,这表明菌株 J75 主要通过分泌溶藻物质间接影响藻细胞。研究报道,许多微生物能够合成并释放多种溶藻物质,如邻酪氨酸、尿刊酸、苯甲酸等^[17,40-41],这些物质可作用于微藻细胞,抑制藻细胞生长甚至导致藻细胞死亡。

光合作用是藻细胞中的重要代谢过程之一,为藻细胞提供有机物质和能量。光合作用系统容易受到不利环境因素的影响^[42-43],因此分析溶藻细菌对藻类光合指标的影响对于理解溶藻机理至关重要。叶绿素 a 在光能收集和能量转换过程中起着重要作用,常被用于评估藻细胞对环境胁迫的响应程度^[44]。 F_v/F_m 表示藻细胞 PSII 的潜在最大光合能力,反映藻细胞的最大光能转换效率,是光合作用变化的重要指标^[39]。 α 表示光利用效率,即光捕获系统向光反应中心 PS II 传递光能的比率; $rETR_{max}$ 表示最大相对电子传递速率,可反映卡尔文循环的最大能力^[45]。Vanden 等^[46]研究表明,光化学反应和电子传递主要依赖于类囊体上的电子载体及相关酶的移动,光合作用主要受类囊体结构和流动性的调控。当受到溶藻物质的影响时,微藻的类囊体膜可能受损,进而导致细胞死亡。例如,霍氏菌属(*Hahella* sp.) KA22 产生的灵菌红素能降解叶绿素 a,通过破坏类囊体膜引起光合系统的紊乱^[20];菌株紫菜亚硫酸盐杆菌(*Sulfitobacter porphyrae*) ZFX1 产生的溶藻化合物降解了东海原甲藻的光合色素,破坏了其光合系统,导致藻细胞死亡^[47]。

细胞内 ROS 的生成和清除通常处于平衡状态,但外界条件的刺激可打破这种平衡而使细

胞产生过量的 ROS,从而引起脂质过氧化,对藻细胞膜造成氧化损伤,破坏藻细胞膜的完整性与通透性^[48-49]。在本研究中,J75 上清液的胁迫导致光合系统电子传递过程受阻,电子传递链中电子积累,进而导致细胞内 ROS 含量的上升。ROS 含量的升高破坏了藻细胞的抗氧化系统平衡,诱导藻类发生氧化应激,促进细胞膜的脂质过氧化。MDA 是不饱和脂肪酸在氧自由基攻击下发生脂质过氧化的副产物,其含量常被用来反映细胞内脂质过氧化的程度,进而间接反映细胞损伤的程度^[50-51]。细胞膜主要由不饱和磷脂组成,对氧化损伤较为敏感,因此,过量的 ROS 会导致 MDA 的过量积累^[52]。例如,Li 等利用曲霉属(*Aspergillus* sp.) SCSIOW2 产生的化合物 malformin C 处理红色赤潮藻(*Akashiwo sanguinea*)和海洋卡盾藻(*Chattonella marina*)后均发现 ROS 和 MDA 水平显著升高^[53];溶藻菌株柔武氏菌属(*Raoultella* sp.) S1 分泌的溶藻物质通过诱导脂质过氧化,使铜绿微囊藻细胞的 MDA 含量显著上升,在 36 h 时上升至对照组的 6 倍^[42],对藻细胞造成严重伤害。

SOD 是一种存在于生物体内的抗氧化金属酶,能够催化超氧阴离子自由基歧化生成氧气和过氧化氢,在机体氧化与抗氧化平衡中发挥着至关重要的作用^[54]。随后 POD、CAT 和 GSH 会进一步与生成的过氧化氢反应生成 H_2O ,以清除体内由氧化应激产生的活性氧^[55-59]。本研究中,J75 上清液的胁迫下,产生了过量的 ROS,激活了藻细胞的抗氧化系统,抗氧化酶的含量开始持续升高,表明细胞内部发生了抗氧化防御反应,以保护藻细胞免受氧化损伤。然而,过高的 ROS 水平超过了细胞的自我防御能力,最终导致细胞死亡。由于脂质过氧化引起的类囊体膜破坏会进一步加剧光合系统的电子传递系统损伤,导致 ROS 大量积累,藻细胞逐

渐死亡。

综上所述, 溶藻细菌 *Pseudoalteromonas* sp. J75 是一株高效的海洋溶藻菌, 对中肋骨条藻有显著的杀灭作用。菌株 J75 通过分泌胞外溶藻物质杀灭藻细胞, 其溶藻物质具有广泛的温度和 pH 适应性, 对多种赤潮藻类均表现出良好的杀藻能力。菌株 J75 破坏了中肋骨条藻的细胞结构和光合系统, 同时导致藻细胞内 ROS 和 MDA 含量增加, 藻细胞抗氧化酶活性升高但无法清除过量的 ROS, 最终导致细胞死亡。

作者贡献声明

金宇阳: 方案实施, 论文撰写; 贾阳: 实验设计, 数据处理, 论文撰写; 徐汉卿: 实验材料提供, 论文修改; 林立东: 样品采集, 论文修改; 赵敏: 研究构思与设计; 马增岭: 实验设计, 论文修改。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] MARAMPOUTI C, BUMA AGJ, de BOER MK. Mediterranean Alien harmful algal blooms: origins and impacts[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2021, 28(4): 3837-3851.
- [2] 姚玉芳, 吴在兴, 袁涌铨, 贺立燕, 曹西华, 宋秀贤, 俞志明. 短凯伦藻高效溶藻菌 *Pseudoalteromonas shioyasakiensis* SE3 的分离、鉴定及溶藻作用研究[J]. 海洋与湖沼, 2024, 55(4): 896-904.
YAO YF, WU ZX, YUAN YQ, HE LY, CAO XH, SONG XX, YU ZM. Isolation and identification of an algicidal bacterium *Pseudoalteromonas shioyasakiensis* SE3 and its algicidal effects on *Karenia brevis*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2024, 55(4): 896-904 (in Chinese).
- [3] LANDSBERG JH. The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms[J]. Reviews in Fisheries Science, 2002, 10(2): 113-390.
- [4] 黄洪辉, 韩贝贝, 张书飞, 吴风霞. 海洋溶藻菌的研究进展[J]. 南方水产科学, 2019, 15(5): 126-132.
HUANG HH, HAN BB, ZHANG SF, WU FX. Advance in marine algicidal bacteria research[J]. South China Fisheries Science, 2019, 15(5): 126-132 (in Chinese).
- [5] LIU DY, SUN J, ZOU JZ, ZHANG J. Phytoplankton succession during a red tide of *Skeletonema costatum* in Jiaozhou Bay of China[J]. Marine Pollution Bulletin, 2005, 50(1): 91-94.
- [6] FENG Y, XIONG YL, HALL-SPENCER JM, LIU KL, BEARDALL J, GAO KS, GE JK, XU JT, GAO G. Shift in algal blooms from micro- to macroalgae around China with increasing eutrophication and climate change[J]. Global Change Biology, 2024, 30(1): e17018.
- [7] HAN MS, FURUYA K, NEMOTO T. Species-specific productivity of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae) in the inner part of Tokyo Bay[J]. Marine Ecology Progress Series, 1991, 79: 267-273.
- [8] YOO JS. Monitoring of algal bloom at Seomjin River estuary, southern coast of Korea[J]. Algae, 2003, 18(4): 361-363.
- [9] KIFLE D, PURDIE DA. The seasonal abundance of the phototrophic ciliate *Mesodinium rubrum* in Southampton Water, England[J]. Journal of Plankton Research, 1993, 15(7): 823-833.
- [10] MALLIN MA. Phytoplankton ecology of North Carolina estuaries[J]. Estuaries, 1994, 17(3): 561-574.
- [11] RAMANAN R, KIM BH, CHO DH, OH HM, KIM HS. Algae-bacteria interactions: evolution, ecology and emerging applications[J]. Biotechnology Advances, 2016, 34(1): 14-29.
- [12] LI DX, ZHANG H, CHEN XH, XIE ZX, ZHANG Y, ZHANG SF, LIN L, CHEN F, WANG DZ. 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.
- [13] KIM JD, KIM JY, PARK JK, LEE CG. 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.
- [14] 陈佳欢. 海洋溶藻菌 *Arenibacter* sp. 6A1 基因组特性及其 VBNC 状态研究[D]. 深圳: 深圳大学硕士学位论文, 2022.
CHEN JH. Genomic characteristics and VBNC state of marine algicidal bacterium *Arenibacter* sp. 6A1[D]. Shenzhen: Master's Thesis of Shenzhen University, 2022 (in Chinese).
- [15] 童晶. 一株高效溶藻菌的筛选及其溶藻作用机理的研究[D]. 深圳: 深圳大学硕士学位论文, 2019.
TONG J. Screening of a highly effective algicidal bacteria and studying its algicidal mechanism[D]. Shenzhen: Master's Thesis of Shenzhen University, 2019 (in Chinese).
- [16] REN SG, JIN YP, MA JN, ZHENG NN, ZHANG J, PENG XY, XIE B. Isolation and characterization of algicidal bacteria from freshwater aquatic environments in China[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1156291.
- [17] YU Y, ZENG YD, LI J, YANG CY, ZHANG XH, LUO F, DAI XZ. An algicidal *Streptomyces amritsarensis* strain against *Microcystis aeruginosa* strongly inhibits microcystin synthesis simultaneously[J]. Science of the Total Environment, 2019, 650: 34-43.

- [18] HOU XP, YAN YY, WANG YQ, JIANG T, ZHANG XH, DAI XZ, IGARASHI Y, LUO F, YANG CY. An insight into algicidal characteristics of *Bacillus altitudinis* G3 from dysfunctional photosystem and overproduction of reactive oxygen species[J]. *Chemosphere*, 2023, 310: 136767.
- [19] WANG JY, YIN XY, XU MY, CHEN YF, JI NJ, GU HF, CAI YF, SHEN X. Isolation and characterization of a high-efficiency algicidal bacterium *Pseudoalteromonas* sp. LD-B6 against the harmful dinoflagellate *Noctiluca scintillans*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 1091561.
- [20] YANG K, CHEN QL, ZHANG DY, ZHANG HJ, LEI XQ, CHEN ZR, LI Y, HONG YL, MA XH, ZHENG W, TIAN Y, ZHENG TL, XU H. The algicidal mechanism of prodigiosin from *Hahella* sp. KA22 against *Microcystis aeruginosa*[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 7750.
- [21] LI Y, LEI XQ, ZHU H, ZHANG HJ, GUAN CW, CHEN ZR, ZHENG W, FU LJ, ZHENG TL. Chitinase producing bacteria with direct algicidal activity on marine diatoms[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 21984.
- [22] BANIN E, KHARE SK, NAIDER F, ROSENBERG E. Proline-rich peptide from the coral pathogen *Vibrio shiloi* that inhibits photosynthesis of zooxanthellae[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(4): 1536-1541.
- [23] 唐水水. 放线菌 L74 溶藻物质的分离纯化及溶藻机理的初步研究[D]. 广州: 华南理工大学硕士学位论文, 2011.
TANG SS. Isolation and preliminary algicidal mechanisms of the algicidal components from *Actinomyces* strain L74[D]. Guangzhou: Master's Thesis of South China University of Technology, 2011 (in Chinese).
- [24] GUO XL, LIU XL, PAN JL, YANG H. Synergistic algicidal effect and mechanism of two diketopiperazines produced by *Chryseobacterium* sp. strain GLY-1106 on the harmful bloom-forming *Microcystis aeruginosa*[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 14720.
- [25] WANG XL, GONG LY, LIANG SK, HAN XR, ZHU CJ, LI YB. Algicidal activity of rhamnolipid biosurfactants produced by *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Harmful Algae*, 2005, 4(2): 433-443.
- [26] ZHANG BH, DING ZG, LI HQ, MOU XZ, ZHANG YQ, YANG JY, ZHOU EM, LI WJ. Algicidal activity of *Streptomyces zhoucidicus* JXJ-0089 metabolites and their effects on *Microcystis* physiology[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(17): 5132-5143.
- [27] SHI XG, ZOU YZ, ZHENG WH, LIU LM, XIE YP, MA RJ, CHEN JF. A novel algicidal bacterium and its effects against the toxic dinoflagellate *Karenia mikimotoi* (*Dinophyceae*) [J]. *Microbiology Spectrum*, 2022, 10(3): e00429-22.
- [28] ZHANG B, YANG Y, HE W, LIU W. Algicidal process and mechanisms of *Enterobacter hormaechei* F2 revealed by an integrated transcriptomic and metabolomic approach[J]. *Genomics*, 2023, 115(2): 110586.
- [29] ZENG GM, GAO P, WANG JL, ZHANG JX, ZHANG ML, SUN D. Algicidal molecular mechanism and toxicological degradation of *Microcystis aeruginosa* by white-rot fungi[J]. *Toxins*, 2020, 12(6): 406.
- [30] GUILLARD RR, RYTHER JH. Studies of marine planktonic diatoms: 1. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 1962, 8: 229-239.
- [31] LU XH, ZHOU B, XU LL, LIU L, WANG GY, LIU XD, TANG XX. 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.
- [32] DeLONG EF. Archaea in coastal marine environments[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1992, 89(12): 5685-5689.
- [33] BAI F, JIA YL, LI J, WU ZX, LI L, SONG LR. Paraquat induces different programmed cell death patterns in *Microcystis aeruginosa* and *Chlorella luteoviridis*[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2023, 249: 114429.
- [34] SHA J, XIONG HY, LI CJ, LU ZY, ZHANG JC, ZHONG H, ZHANG W, YAN B. Harmful algal blooms and their eco-environmental indication[J]. *Chemosphere*, 2021, 274: 129912.
- [35] GUILLOTIN S, DELCOURT N. Marine Neurotoxins' effects on environmental and human health: an OMICS overview[J]. *Marine Drugs*, 2022, 20(1): 18.
- [36] SHI JL, WANG WJ, WANG F, LEI S, SHAO SB, WANG C, LI GY, AN TC. Efficient inactivation of harmful algae *K. mikimotoi* by a novel algicidal bacterium via a rare direct contact pathway: performances and mechanisms[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 892: 164401.
- [37] LYU P, LI HL, ZHENG XX, ZHANG H, WANG C, QIN Y, XIA B, WANG DS, XU SJ, ZHUANG XL. Oxidative stress of *Microcystis aeruginosa* induced by algicidal bacterium *Stenotrophomonas* sp. KT48[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2022, 106(11): 4329-4340.
- [38] LI TT, XU LQ, LI WX, WANG CX, GIN KYH, CHAI XL, WU BR. Dissolved organic carbon spurs bacterial-algal competition and phosphorus-paucity adaptation: boosting *Microcystis*' phosphorus uptake capacity[J]. *Water Research*, 2024, 255: 121465.
- [39] DING N, WANG YB, CHEN JF, MAN SY, LAN F, WANG C, HU LJ, GAO PK, WANG RJ. Biochemical and physiological responses of harmful *Karenia mikimotoi* to algicidal bacterium *Paracoccus homiensis* O-4[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 771381.
- [40] COYNE KJ, WANG YF, JOHNSON G. Algicidal bacteria: a review of current knowledge and applications to control harmful algal blooms[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 871177.
- [41] LIU F, FENG SR, AL-HAIMI AANM, ZHU SN, CHEN HJ, FENG PZ, WANG ZM, QIN L. Discovery of two novel bioactive algicidal substances from *Brevibacillus* sp. via metabolomics profiling and back-validation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 469: 133985.
- [42] LI DP, KANG X, CHU LL, WANG YF, SONG XS, ZHAO XX, CAO X. Algicidal mechanism of *Raoultella ornithinolytica* against *Microcystis aeruginosa*: antioxidant response, photosynthetic system damage and microcystin degradation[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 287:

- 117644.
- [43] GUIDI L, LO PICCOLO E, LANDI M. Chlorophyll fluorescence, photoinhibition and abiotic stress: does it make any difference the fact to be a C3 or C4 species?[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 174.
- [44] NI LX, RONG SY, GU GX, HU LL, WANG PF, LI DY, YUE FF, WANG N, WU HQ, LI SY. Inhibitory effect and mechanism of linoleic acid sustained-release microspheres on *Microcystis aeruginosa* at different growth phases[J]. *Chemosphere*, 2018, 212: 654-661.
- [45] SALLEH S, McMINN A. The effects of temperature on the photosynthetic parameters and recovery of two temperate benthic microalgae, *Amphora* cf. *coffaeiformis* and *Cocconeis* cf. *sublittoralis* (*Bacillariophyceae*) [J]. *Journal of Phycology*, 2011, 47(6): 1413-1424.
- [46] VANDEN DRIESCHE T, DUJARDIN E, MAGNUSSON A, SIRONVAL C. *Acetabularia mediterranea*: circadian rhythms of photosynthesis and associated changes in molecular structure of the thylakoid membranes[J]. *International Journal of Chronobiology*, 1976, 4(2): 111-124.
- [47] ZHANG FX, FAN YX, ZHANG DY, CHEN SS, BAI X, MA XH, XIE Z, XU H. Effect and mechanism of the algicidal bacterium *Sulfitobacter porphyrae* ZFX1 on the mitigation of harmful algal blooms caused by *Prorocentrum donghaiense*[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 263: 114475.
- [48] CHEN X, WANG DY, WANG YQ, SUN PF, MA SH, CHEN TT. Algicidal effects of a high-efficiency algicidal bacterium *Shewanella* Y1 on the toxic bloom-causing dinoflagellate *Alexandrium pacificum*[J]. *Marine Drugs*, 2022, 20(4): 239.
- [49] WU DH, YANG CY, ZHANG X, HOU XP, ZHANG SQ, DAI XZ, ZHANG XH, IGARASHI Y, LUO F. Algicidal effect of tryptoline against *Microcystis aeruginosa*: excess reactive oxygen species production mediated by photosynthesis[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 806: 150719.
- [50] ZHANG S, ZHENG W, WANG H. Physiological response and morphological changes of *Heterosigma akashiwo* to an algicidal compound prodigiosin[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 385: 121530.
- [51] ZHANG Q, SONG Q, WANG C, ZHOU C, LU CS, ZHAO MR. Effects of glufosinate on the growth of and microcystin production by *Microcystis aeruginosa* at environmentally relevant concentrations[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 575: 513-518.
- [52] LU QQ, ZHOU XZ, LIU RD, SHI GJ, ZHENG NN, GAO GH, WANG YY. Impacts of a bacterial algicide on metabolic pathways in *Chlorella vulgaris*[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2023, 249: 114451.
- [53] LI XF, XIA ZY, WANG B, LAI LW, WANG J, JIANG LH, LI TC, WU JH, WANG LY. Mafformin C, an algicidal peptide from marine fungus *Aspergillus* species[J]. *Ecotoxicology*, 2021, 30(5): 996-1003.
- [54] 马双慧, 白洁, 孙鹏飞, 王登宇, 相壮壮, 李辉, 晨曦. 一株溶藻菌 *Zobellella* sp. B307 对太平洋亚历山大藻的溶藻特性及作用机制研究[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2024, 54(5): 63-70.
- MA SH, BAI J, SUN PF, WANG DY, XIANG ZZ, LI H, CHEN X. The algicidal characteristics and mechanism of an algicidal bacterium *Zobellella* sp. B307 on *Alexandrium pacificum*[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2024, 54(5): 63-70 (in Chinese).
- [55] PETERS LP, CARVALHO G, MARTINS PF, DOURADO MN, VILHENA MB, PILEGGI M, AZEVEDO RA. Differential responses of the antioxidant system of ametryn and clomazone tolerant bacteria[J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e112271.
- [56] SRINIVASAN R, HAN HS, SUBRAMANIAN P, MAGESWARI A, KIM SH, TIRUMANI S, MAURYA VK, MUTHUKALIANNAN GK, RAMYA M. Lipid ROS- and iron-dependent ferroptotic cell death in unicellular algae *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. *Cells*, 2023, 12(4): 553.
- [57] KWOK CT, van de MERWE JP, CHIU JMY, WU RSS. Antioxidant responses and lipid peroxidation in gills and hepatopancreas of the mussel *Perna viridis* upon exposure to the red-tide organism *Chattonella marina* and hydrogen peroxide[J]. *Harmful Algae*, 2012, 13: 40-46.
- [58] LIU F, QIN L, ZHU SN, CHEN HJ, AL-HAIMI AANM, XU J, ZHOU WZ, WANG ZM. Applications-oriented algicidal efficacy research and in-depth mechanism of a novel strain *Brevibacillus* sp. on *Microcystis aeruginosa*[J]. *Environmental Pollution*, 2023, 330: 121812.
- [59] LU L, NIU XJ, ZHANG DQ, MA JL, ZHENG XX, XIAO HP, HUANG XY, LIN Z, HU HJ. The algicidal efficacy and the mechanism of *Enterobacter* sp. EA-1 on *Oscillatoria* dominating in aquaculture system[J]. *Environmental Research*, 2021, 197: 111105.