

## 溶微囊藻细菌的富集筛选及其菌群结构特征

邓建明<sup>1,2</sup> 李大平<sup>1</sup> 陶勇<sup>1\*</sup> 何晓红<sup>1</sup> 王晓梅<sup>1</sup>

(1. 中国科学院成都生物研究所 四川 成都 610041)

(2. 中国科学院研究生院 北京 100049)

**摘要:** 利用铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)作为溶藻对象富集、筛选, 获得一个稳定的溶藻菌群。采用叶绿素、PCR 和变性梯度凝胶电泳(DGGE)方法研究溶藻过程及其细菌种群结构的变化。结果显示, 富集的溶藻菌经  $1 \times 10^{-5}$  稀释后仍有显著溶藻效果。*Rubritepida* 菌 C1、假单胞菌 C2 和鞘氨醇单胞菌 C3 是存在于铜绿微囊藻中的 3 种伴生细菌。加入富集的溶藻菌群后, 菌群结构发生明显的变化, *Rubritepida* 菌 C1、假单胞菌 C2 消失, 混合菌群包含未培养黄杆菌 A2、鞘氨醇单胞菌 C3 和噬氢菌 A3, 其中黄杆菌 A2 是优势菌群, 并且细菌种群结构的变化与藻细胞消亡之间有显著的相关性。通过菌种的分离鉴定与 DGGE 的测序结果比较, 一些未培养菌可能在溶藻过程中起重要调控作用。

**关键词:** 溶藻细菌, 铜绿微囊藻, 菌群, DGGE, 未培养菌

## Enrichment and Molecular Characterization of a Bacterial Culture Involved in Lysis of *Microcystis aeruginosa*

DENG Jian-Ming<sup>1,2</sup> LI Da-Ping<sup>1</sup> TAO Yong<sup>1\*</sup> HE Xiao-Hong<sup>1</sup> WANG Xiao-Mei<sup>1</sup>

(1. Chengdu Institute of Biology, the Chinese Academy of Sciences, Chengdu, Sichuan 610041, China)

(2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** An enrichment culture showing specific algae-lysing activity was isolated from the mixtures of different samples and *Microcystis aeruginosa*. The process of algal lysis was monitored by chlorophyll measurement, PCR, and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). The result showed that the enrichment culture had still high algicidal activity against *M. aeruginosa* after 1/100000 dilution. *Rubritepida* sp. C1, *Pseudomonas* sp. C2 and *Sphingomonas* sp. C3, as accompanying bacteria, existed in *M. aeruginosa*. The bacterial community in *M. aeruginosa* showed significant change after adding the enrichment culture, where uncultured *Flavobacterium* sp. A2, *Sphingomonas* sp. C3 and *Hydrogenophaga* sp. A3 were observed, and A2 became a dominant species. The obvious correlation can be seen between change of bacterial population and extinction of *M. aeruginosa*. Compared identification of pure bacterium with sequencing of DGGE band, it was inferred that uncultured bacteria were probably play an important role in controlling the growth and abundance of *M. aeruginosa*.

**Keywords:** Algicidal bacteria, *Microcystis aeruginosa*, Bacterial community, DGGE, Uncultured bacterium

基金项目: 国家 863 计划项目(No. 2007AA06Z324); 中科院成都生物研究所领域前沿项目(No. CIB-2007-LYQY-06); 国家自然科学基金项目(No. 30870449)

\* 通讯作者: Tel: 86-28-85235149; 信箱: taoyong@cib.ac.cn  
收稿日期: 2008-11-25; 接受日期: 2009-02-06

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

近年来, 由于水体富营养化日趋严重, 以及气候变暖等原因, 我国太湖、滇池、巢湖等连年出现大面积的蓝藻水华暴发, 造成严重的环境污染和经济损失。蓝藻水华的防治已成为环境领域一个重要研究课题。针对我国湖泊面临的严重富营养化及其灾害问题, 探索浮游藻类的生物控制、抑制“水华”发生、改善湖泊水质的有效途径是非常必要的。细菌, 作为调节蓝藻种群的关键生物因子之一, 是水生生态系统中生物种群结构和功能的重要组成部分<sup>[1,2]</sup>。相关研究显示, 某些水华和赤潮的突然消亡可能就与溶藻细菌有关<sup>[3,4]</sup>。国外对溶藻细菌的研究已经有数十年的历史, 研究重点也逐渐从单一溶藻菌的筛选及溶藻特性研究过渡到菌-藻种群生态学及其分子调控机理等方面<sup>[5-9]</sup>。国内对溶藻细菌的研究目前仍处于起步阶段, 从已报道的文献看, 多数研究是基于可分离培养的溶藻菌, 以及在此基础上的溶藻特性研究<sup>[10-15]</sup>。而环境中大多数细菌是不能被分离培养的<sup>[16,17]</sup>, 采用传统的微生物分离方法来研究溶藻菌存在很大的局限性, 可能会漏筛主要的溶藻功能菌株。

作者在前期研究中, 通过连续传代, 富集得到了一个能够稳定溶解铜绿微囊藻的混合菌群。采用各种培养基分离到二十多株纯菌, 但这些纯菌单一或人为混合后接入预培养藻液中, 都没有溶藻效果, 表明用传统的微生物分离培养技术在微生物溶藻研究中的局限性。因此, 本论文采用 PCR-DGGE 技术研究菌藻作用过程中细菌群落结构的变化, 并结合序列测定, 对其微生物组成进行解析和鉴定, 分析溶藻过程中优势种群及其细菌群落演替规律。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 藻种及其培养条件:** 实验藻种为铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*, FACHB 905), 来源于中国科学院水生生物研究所藻种保藏中心, 分离于滇池。藻种经活化后, 于 25°C, 光照强度为 2000 lx, 光暗比 12 h:12 h 条件下在光照培养箱中预培养 3 d~7 d, 备用。

**1.1.2 培养基:** 蓝藻培养基 (BG11 medium): NaNO<sub>3</sub> 150 mg, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 4 mg, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 7.5 mg, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 3.6 mg, Citric acid 0.6 mg, Ferric ammonium 0.6 mg, EDTA 0.1 mg, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2 mg, A5 Solu-

tion + Co 0.1 mL, Distilled water 99.9 mL。其中 A5 Solution + Co 溶液: H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 2.86 g, MnCl<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O 1.81 g, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.222 g, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.079 g, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.390 g, Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.049 g, Distilled water 1000 mL。

**1.1.3 微生物样品采集:** 样品分别取自滇池、成都市区的几个富营养化池塘、成都市污水厂活性污泥、四川大学荷花池和本实验室的生物脱氮固定生物膜系统。

### 1.2 方法

**1.2.1 溶藻细菌的富集:** 将所取样品摇匀后, 用滤纸初步过滤掉污物杂质。随后将不同来源的微生物样品各取 1 mL 分别加入到 100 mL 预培养的铜绿微囊藻培养物中, 藻菌共同培养, 培养条件同上。通过与不加微生物样品的对照相比, 肉眼观察微囊藻的生长及其颜色变化, 通过测定藻叶绿素 a (Chlorophyll a, chl<sub>a</sub>) 含量对溶藻效率进行定量评估。将出现明显溶藻效果的菌藻混合液按 1% 的比例接入新鲜铜绿微囊藻培养物中, 观察溶藻效果, 重复上述试验 3 次以富集溶藻细菌。得到的溶藻细菌培养物再进行传代转接实验, 接种量为 0.1%, 即每次取 0.1 mL 溶藻液接入 100 mL 新的藻液中, 连续传代 10 次以后, 得到稳定的溶藻菌群, 再进行下一步的溶藻实验。

**1.2.2 溶藻特性:** 主要分析稀释度、作用时间对溶藻效果的影响和菌群变化, 以及在不同生长阶段的藻液中接入溶藻菌群后的菌群变化。

1) 稀释度: 蓝藻预培养 3 d 后, 按 1% 比例接入富集的溶藻菌群及不同的稀释处理 (10<sup>-1</sup>~10<sup>-5</sup>), 按照上述培养条件培养。为减少误差, 每个处理另设 2 个重复。定期观察溶藻效果并取样测定叶绿素含量以及提取基因组 DNA, 以备下一步 DGGE 分析。

2) 溶藻时间: 蓝藻预培养 3 d 后, 按 1% 比例接入溶藻菌群, 另设 2 个重复, 培养条件和分析方法同上。

3) 生长阶段: 分别在不同生长阶段 (3 d、5 d、7 d、9 d 和 11 d) 的蓝藻中, 按 1% 比例接入溶藻菌群, 培养条件同上, 观察出现明显溶藻现象的时间, 并取样提取基因组 DNA, 进行 DGGE 分析。

**1.2.3 菌群结构分析:** 1) 核酸提取与 PCR 扩增: 细菌基因组 DNA 采用细菌基因组提取试剂盒

(DDP302-02, Tiangen)提取。DGGE 引物为 16S rDNA V3 区通用引物 338FGC(5'-C GCC CGC CGC GCG CGG CGG GCG GGG CGG GGG CAC GGG GGG CCT ACG GGA GGC AGC AG-3', 下划线表示 GC 夹)和 519RC(5'-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3')<sup>[7]</sup>。PCR 扩增程序: 94°C 预变性 2 min; 94°C 变性 45 s, 65°C 退火 35 s, 72°C 延伸 45 s, 33 个循环; 最后, 72°C 延伸 5 min。PCR 产物采用琼脂糖凝胶电泳(1% 胶浓度, 1×TAE 电泳缓冲液)检测。2) DGGE 分析: 将上述的 PCR 产物进行 DGGE 分析(DGGE 电泳仪为 Bio-rad 公司生产)。8%的聚丙烯酰胺凝胶(1.5 mm 厚, 16 cm×16 cm), 变性剂(100%的变性剂为 7 mol/L 的尿素和 40%的去离子甲酰胺)范围 30%~60%。实验条件: 温度 60°C, 电压 80 V, 电泳时间 6 h。电泳结束后, 溴化乙锭染色 15 min, 在凝胶成像系统中照相, 并采用 Quantity One 软件进行聚类分析。3) DNA 的测序及进化树分析: 将图谱中的主要条带进行切胶回收, 并以回收的 DNA 为模板, 重新进行 V3 区的 PCR 扩增, PCR 反应条件同上。PCR 产物经 1.0% 琼脂糖电泳检验后, 送上海生物工程公司测序。测序结果在 RDPII (<http://rdp.cme.msu.edu/>) 数据库中进行序列比对, 并下载最接近的已知序列, 以 ClustalX 软件比对后, 以 MEGA 4 软件构建系统发育进化树(Neighbor-Joining 模型, Bootstrap 1000 次)。

## 2 结果

### 2.1 富集的溶藻菌群及其溶藻效果

按照前述方法, 富集筛选得到一个有明显抑藻效果的菌群。将细菌富集培养物按 0.1% 的比例接入预培养的铜绿微囊藻中, 连续传代 10 次以后, 得到高效、稳定的溶微囊藻菌群。

### 2.2 稀释度对溶藻效果的影响

如图 1a 所示, 加入溶藻菌群( $1.2 \times 10^8$  CFU/mL) 8 d 后, 1% 原液至  $10^{-3}$  稀释处理(初始浓度:  $1.2 \times 10^6$  CFU/mL~ $1.2 \times 10^3$  CFU/mL)均出现明显的溶藻效果, 而  $10^{-4}$ ~ $10^{-5}$  处理溶藻效果不明显。继续培养到 17 d 后,  $10^{-4}$ ~ $10^{-5}$  两个处理也出现明显的溶藻现象(图 1b)。

### 2.3 溶藻时间对溶藻效果的影响

由图 2 可以看出, 与对照组相比, 加入富集的溶藻菌后, 第 4 天开始出现溶藻现象, 6 d~8 d 出现

明显的溶藻效果。

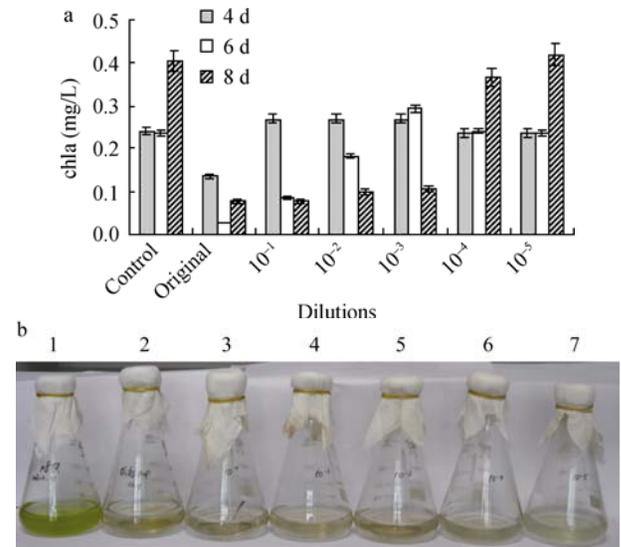


图 1 稀释度对溶藻效果的影响

Fig. 1 Algae lysis monitored by chla measurement (a) and observation (b) with serial bacterial dilution

注: a: 叶绿素测定; b: 溶藻效果观察(17 d); 1: 对照; 2: 原液; 3~7: 不同稀释处理( $10^{-1}$ ~ $10^{-5}$ )。

Note: 1: Control; 2: Original culture; 3~7: Dilution from  $10^{-1}$  to  $10^{-5}$ .

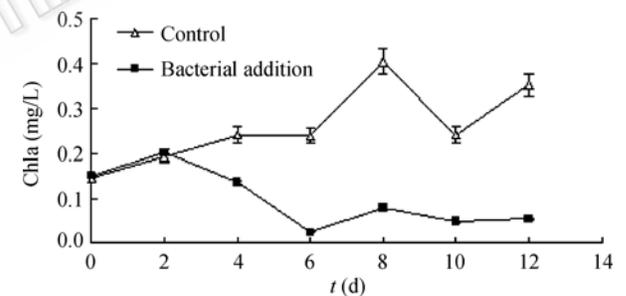


图 2 溶藻过程中的叶绿素变化

Fig. 2 The time course of algal lysis measured by chla

### 2.4 藻生长阶段对溶藻效果的影响

在预培养 3 d、5 d、7 d、9 d、11 d 的微囊藻中, 按 1% 比例接入溶藻菌群后, 结果观察到出现溶藻现象的时间分别为 4 d、4 d、5 d、6 d 和 7 d。表明随着藻预培养时间的延长, 溶藻现象出现的时间也相应延迟, 实现完全控藻的难度也逐渐增加, 因此应在蓝藻生长初期接入溶藻菌效果较好。

### 2.5 DGGE 分析

2.5.1 不同稀释度溶藻过程菌群变化: DGGE 电泳显示(图 3a), 在对照组中, 主要有 C1、C2 和 C3 条带。而试验组中, 经富集的溶藻菌群作用后, C1、C2

条带随着溶藻菌群稀释倍数的减小及藻细胞的消灭逐渐消失, 而 C3 条带则比较稳定, 处理前后变化不大, 新出现 A2、A3 条带, 其中 A2 为优势条带, 其丰度占 60% 以上。

聚类分析表明,  $10^{-1} \sim 10^{-5}$  处理聚为一簇, 最低

相似度 69%, 与不加菌的对照微生物种群相似度很低(33%)。  $10^{-1} \sim 10^{-3}$  处理又聚为一簇, 相似度在 76% 以上。而且随着菌群结构变化的增大, 藻细胞数量减少, 表明富集的溶藻菌群对微囊藻(905)生长具有明显的调节作用。

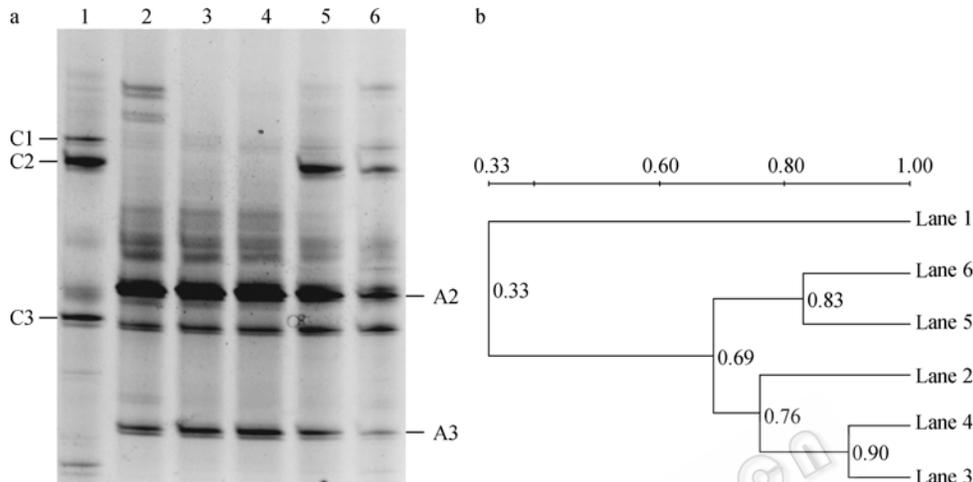


图 3 菌群结构的 DGGE 电泳(a)及聚类分析(b)

Fig. 3 DGGE gel (a) and cluster analysis (b) of the bacterial community

注: 1: 对照; 2~6:  $10^{-1} \sim 10^{-5}$  稀释度。

Note: 1: Control; 2~ 6: Bacterial addition at serial dilution from  $10^{-1}$  to  $10^{-5}$ .

通过序列比对及进化树分析(图 4), C1 与 *Rubritepida flocculans* [T] (登录号: AF465832)的亲缘关系最近, 同源性为 95.7%; C2 与 1 株假单胞菌(*Pseudomonas* sp. strain 1131; AY230195)和 2 株未培养假单胞菌(EF508975、EF511845)的同源性较高(92.4%~93%); C3 与 3 株鞘氨醇单胞菌(AF131296、DQ337548、EF494192)聚为一簇, 同源性均为 98.3%; A2 与 3 株未培养的黄杆菌(EF520552、AY752092、DQ501341)聚为一簇, 同源性在 95.7%~97.3%; A3 与噬氢菌(AB166889、AY168755、DQ984633)有较高的同源性(98.5%~99.3%)。

**2.5.2 不同溶藻时间菌群变化:** DGGE 分析显示, 加入溶藻菌群后, 随着溶藻时间的延长, 藻液中的原有条带 C1, C2 逐渐消失, C3 则比较稳定。新出现的条带 A2 丰度不断增加, 最终成为优势种群。与图 3a 相比, A3 条带并未出现在图 5 中, 而溶藻效果不受影响, 表明 A3 菌对于溶藻没有直接影响。

在藻的不同生长阶段接入溶藻菌群, 发现随着接菌时间的延迟, 出现溶藻现象的时间也相应延

长。DGGE 电泳也显示了类似图 3a 和图 5 的菌群结构变化(数据未显示)。

### 3 讨论

传统溶藻细菌的研究, 主要通过培养基分离纯菌, 再回接入目标藻种中, 证实其溶藻特性后, 进一步考察其溶藻特征。这种方法可以快速的明确研究目标, 排除干扰, 结果也容易分析。但是, 由于缺乏对细菌间的相互依赖关系和细菌特殊营养需求的了解, 有些细菌是不能被分离培养的<sup>[18]</sup>。作者在前期研究中分别采用真菌培养基(PDA), 放线菌培养基(高氏培养基), 细菌培养基(肉膏培养基), 寡营养的 BG11 琼脂平板、蓝藻过滤液琼脂平板、土壤滤液琼脂平板、富营养化池塘水滤液琼脂平板以及吕伟英的改良培养基<sup>[19]</sup>等 8 种培养基都未分离到溶藻菌群中起主要作用的溶藻菌。因此, 推测起关键溶藻作用的可能是一些未培养菌。

从本实验的 DGGE 电泳和测序结果来看, 预培养藻液中的伴生菌主要是 *Rubritepida*(C1), 假单胞

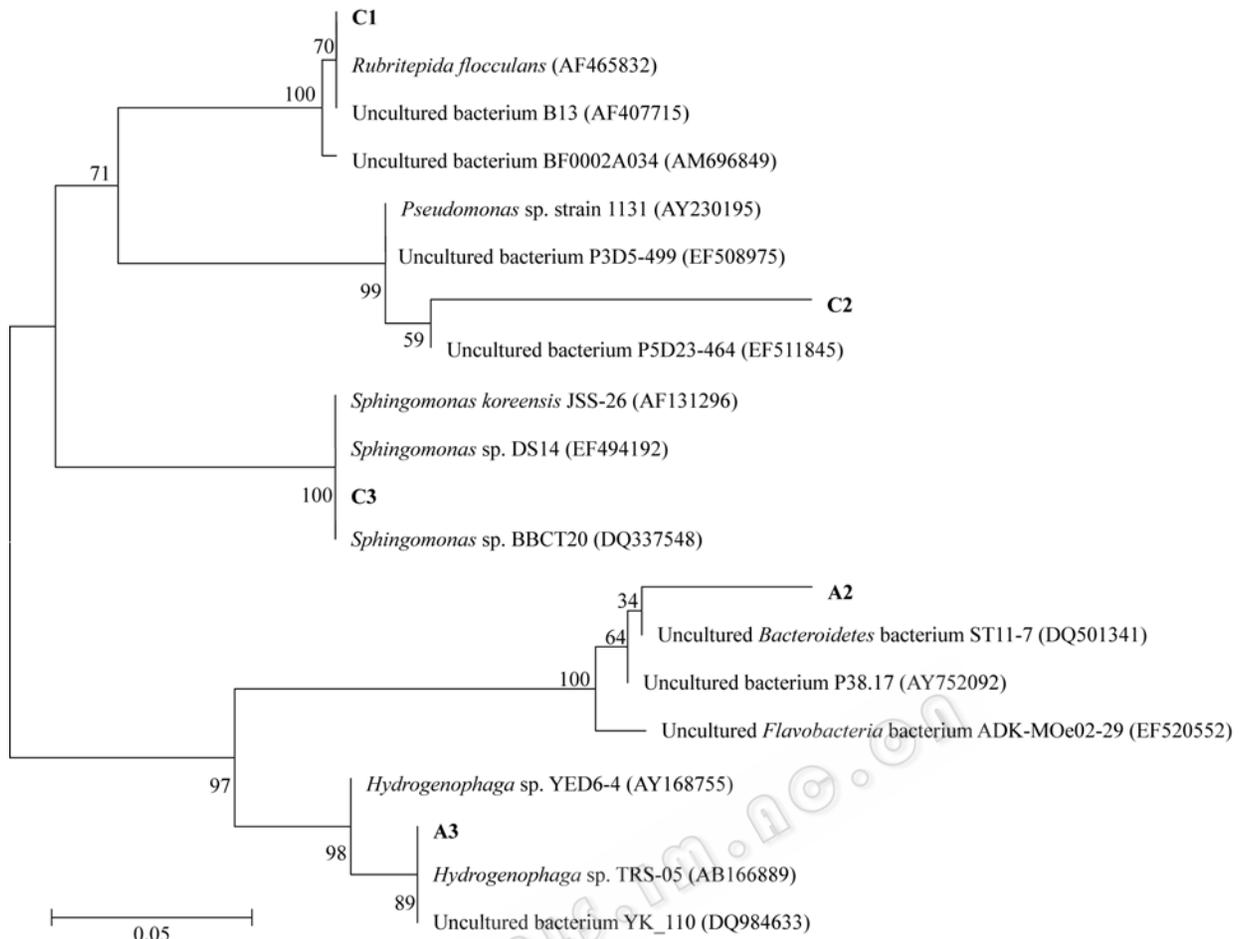


图 4 进化树分析

Fig. 4 Phylogenetic tree constructed with sequences from excised DGGE bands

Note: The numbers in bracket were GenBank accession numbers; The numbers in the tree were the percentages of bootstrap replicates in which the cluster was found; Bar (0.05) represented substitution per site.

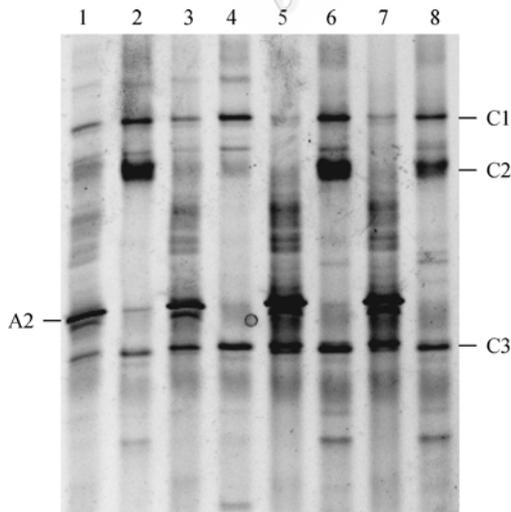


图 5 不同溶藻时间的菌群变化(DGGE)

Fig. 5 Changes of the bacterial community structure monitored by DGGE at different time

注: 1、3、5、7: 加菌后 2 d、4 d、6 d、8 d; 2、4、6、8: 对照。

Note: 1, 3, 5, 7: 2, 4, 6, 8 days after bacterial addition; 2, 4, 6, 8: Controls.

菌(C2)和鞘氨醇脂单胞菌(C3), 加入富集的溶藻菌群后, 菌群结构逐渐发生变化, 优势菌群为一种未培养的黄杆菌(A2)以及鞘氨醇脂单胞菌(C3)和噬氢菌(A3)。其中, A2 是 3 种菌中最主要的优势菌种, 在所有 DGGE 电泳中稳定出现, 且其浓度与藻细胞数量成反比, 表明该菌可能是溶藻菌群中主要的功能菌。序列分析显示 A2 应是一种未培养的黄杆菌, 同时通过与前期分离纯化的菌株序列比较, 发现通过上述 8 种培养基都未分离到 A2, 进一步证实该菌是一种未培养菌。黄杆菌是海洋浮游细菌的一个重要组成成分, 其中一些种甚至能利用光能生长<sup>[20]</sup>。关于溶藻黄杆菌国内外已有一些报道。Fukami<sup>[21]</sup>曾分离到一株能抑制赤潮优势藻 *Gymnodinium mikimotoi* 生长的黄杆菌(*Flavobacterium* sp. strain 5N-3)。Sohn 等<sup>[22]</sup>分离到一株溶藻细菌, 并将之命名为黄杆菌科的一个新属(*Kordia algicida* gen. nov., sp. nov.)。An QD 等<sup>[23]</sup>也分离到一株具有溶藻活性的黄杆菌

(*Flavobacterium* sp. strain LXA.)。史顺玉等<sup>[24]</sup>分离到 4 株高效溶藻菌, 其中一株为嗜鳍黄杆菌(*Flavobacterium branchiophila*)。但这些研究大都是建立在可分离培养的基础之上, 对于未培养黄杆菌溶微囊藻的研究尚未见报道。Eilers 等<sup>[25]</sup>在研究海洋微生物时发现, 可培养的细菌实际比例可能不及总菌数的 1%, 而自然状态下实际的优势种群, 如噬胞菌-黄杆菌(*Cytophaga-Flavobacteria*)等则很少或者完全不能培养。本文的研究结果表明一些未培养菌可能在溶藻过程中起重要作用, 其中的优势菌种: 一种未培养黄杆菌与藻细胞的消亡之间具有显著的相关性。

此外, 从 DGGE 电泳来看, 在经过多次纯藻分离后, 对照中仍然存在 3 种细菌种群(*Rubritepida* 菌、假单胞菌和鞘氨醇单胞菌), 反映出这 3 个种群与藻细胞有密切的伴生关系。而一个有趣的现象就是随着藻细胞的消亡, *Rubritepida* 菌、假单胞菌群逐渐消失, 鞘氨醇单胞菌则变化不大。这与 Hare 等<sup>[7]</sup>的研究有类似的现象, 研究者发现加入溶藻菌群后, 有的细菌条带消失; 有的细菌反而在细菌溶藻后增加了, 并认为这是细菌溶藻后带来更多有机物的结果。本实验的结果表明富集的溶藻菌群与藻种所附带的藻际细菌群落间可能存在着作用关系。

由于 DGGE 条带的长度只有 180 bp 左右, 因此通过其进行菌种鉴定还不够准确。下一步作者将通过构建 16S rRNA 文库进一步确定优势菌的种属, 并在此基础上设计探针, 通过荧光原位杂交(FISH)来深入研究菌群结构的演替及未培养菌在溶藻过程中的作用。

## 4 结论

1) 通过富集、驯化, 获得一个稳定溶藻菌群, 该菌群对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*, FACHB 905)有显著的溶藻作用。

2) 试验结果表明, 加入 1%富集溶藻菌群后, 溶藻现象最早在第 4 天出现, 6 d~8 d 内出现显著溶藻效果; 溶藻菌群经  $1 \times 10^{-5}$  稀释后仍有显著溶藻效果; 溶藻菌群的加入时间应在微囊藻生长初期效果较好。

3) DGGE 和聚类分析显示 *Rubritepida* 菌、假单胞菌和鞘氨醇单胞菌是广泛存在于铜绿微囊藻中的 3 种伴生细菌。加入富集的溶藻菌群后, 随着藻细胞

的消亡, *Rubritepida* 菌、假单胞菌逐渐消失, 未培养的黄杆菌取而代之成为主要的优势种群。细菌种群结构的变化与藻细胞消亡之间具有显著的相关性。

4) 通过菌种的分离鉴定与 DGGE 的切胶测序结果比较分析, 一些未培养菌可能在溶藻过程中起重要调控作用。

## 参考文献

- [1] Doucette GJ, McGovern ER, Babinchak JA. Algicidal bacteria active against *Gymnodinium breve* (dinophyceae). I. Bacterial isolation and characterization of killing activity. *J phycol*, 1999, **35**: 1447-1454.
- [2] Pathmalal MM, Kawabata Z, Nakano S. Algicidal effect of the bacterium *Alcaligenes denitrificans* on *Microcystis* spp.. *Aquat Microb Ecol*, 2000, **22**: 111-117.
- [3] Doucette GJ, Kodama M, Gallacher S, et al. Bacterial interaction with harmful algal bloom species: Bloom ecology, toxigenesis and cytology. In: Anderson DM, Cembella AD, Hallegraeff GM (ed.), *Physiological ecology of harmful algal bloom*, NATO ASI Series, Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. 1998, Vol. G **41**, pp.619-647.
- [4] Lee SO, Kato J, Takiguchi N, et al. Involvement of an extracellular protease in algicidal activity of the marine bacterium *Pseudoalteromonas* sp. strain A28. *Appl Environ Microbiol*, 2000, **66**(1): 4334-4339.
- [5] Adachi M, Fukami K, Kondo R, et al. Identification of marine algicidal *Flavobacterium* sp. 5N-3 using multiple probes and whole-cell hybridization. *Fisheries Science*, 2002, **68**(4): 713-720.
- [6] Mayali X, Doucette GJ. Microbial community interactions and population dynamics of an algicidal bacterium active against *Karenia brevis* (Dinophyceae). *Harmful Algae*, 2002, **1**: 277-293.
- [7] Hare CE, Demir E, Coyne KJ, et al. A bacterium that inhibits the growth of *Pfiesteria piscicida* and other dinoflagellates. *Harmful Algae*, 2005, **4**(2): 221-234.
- [8] Kato J, Amie J, Murata Y, et al. Development of a genetic transformation system for an alga-lysing bacterium. *Appl Environ Microbiol*, 1998, **64**: 2061-2064.
- [9] Jeong H, Yim JH, Lee C, et al. Genomic blueprint of *Halobacterium chejuensis*, a marine microbe producing an algicidal agent. *Nucleic Acids Res*, 2005, **33**(22): 7066-7073.
- [10] 裴海燕, 胡文容, 曲音波, 等. 一株溶藻细菌的溶藻特性及其鉴定. *中国环境科学*, 2005, **25**(3): 283-287.
- [11] 席宇, 吴刚, 张勇, 等. 一株淡水溶藻细菌的分离及初步研究. *华中师范大学学报(自然科学版)*, 2003, **37**(2): 223-226.
- [12] 史顺玉, 刘永定, 沈银武, 等. 细菌 DC10 的溶藻作用

- 及环境因子对该作用的影响. 中国科学 C 辑, 2004, 34(6): 564-568.
- [13] 吴为中, 安成才, 刘新尧, 等. 溶藻细菌(B5)的溶藻效果与溶藻特性的初步研究. 北京大学学报(自然科学版), 2003, 39(4): 489-493.
- [14] 赵传鹏, 浦跃朴, 尹立红, 等. 溶微囊藻菌的分离与溶藻作用. 东南大学学报(自然科学版), 2005, 35(4): 602-604.
- [15] 彭超, 吴刚, 席宇. 3株溶藻细菌的分离鉴定及其溶藻效应. 环境科学研究, 2003, 16(1): 37-40.
- [16] Amann RI, Ludwig W, Schleifer KH. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev*, 1995, 59(1): 143-169.
- [17] Snaird J, Amann R, Huber I, *et al.* Phylogenetic analysis and in situ identification of bacteria in activated sludge. *Appl Environ Microbiol*, 1997, 63(7): 2884-2896.
- [18] 吴刚, 席宇, 赵以军. 溶藻细菌研究的最新进展. 环境科学研究, 2002, 15(5): 43-46.
- [19] 吕伟英, 赵以军, 周瑞, 等. 一种快速检测分离溶藻细菌方法的初探. 微生物学通报, 2007, 34(1): 199-122.
- [20] Gómez-Consarnau L, González JM, Coll-Lladó M. Light stimulates growth of proteorhodopsin-containing marine *Flavobacteria*. *Nature*, 2007, 445: 210-213.
- [21] Fukami K, Yuzawa A, Nishijima T, *et al.* Isolation and properties of a bacterium inhibiting the growth of *Gymnodinium nagasakiense*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1992, 58: 1073-1077.
- [22] Sohn JH, Lee JH, Yi H, *et al.* *Kordia algicida* gen. nov., sp. nov., an algicidal bacterium isolated from red tide, *Int J Syst Evol Microbiol*, 2004, 54: 675-680.
- [23] An QD, Zhang GL, Wu HT, *et al.* Properties of an alginate-degrading *Flavobacterium* sp. strain LXA isolated from rotting algae from coastal China. *Can J Microbiol*, 2008, 54(4): 314-320.
- [24] 史顺玉. 溶藻细菌对藻类的生理生态效应及作用机理研究. 中国科学院研究生院(水生生物研究所), 环境科学(专业)博士论文, 2006.
- [25] Eilers H, Pernthaler J, Glockner FO. Culturability and in situ abundance of pelagic bacteria from the North Sea. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66(7): 3044-3051.

## 征订启事

### 2009年中科院微生物所期刊联合编辑部联合征订全面启动!

	《微生物学报》月刊(每月4日出版), 单价55.00元, 全年定价660元。刊号: ISSN 0001-6209; CODEN WSHPA8。国内邮发代号: 2-504; 国外邮发代号: BM67。
	《生物工程学报》月刊(每月25日出版), 单价65.00元, 全年定价780元。刊号: ISSN 1000-3061; CODEN SGXUED。国内邮发代号: 82-13; 国外邮发代号: BM5608。
	《微生物学通报》月刊(每月20日出版), 单价48.00元, 年价576元。刊号: ISSN 0253-2654; CODEN WSWPDI。国内邮发代号: 2-817; 国外邮发代号: BM413。
	《菌物学报》双月刊(单月15日出版), 单价80元, 全年定价480元。刊号: ISSN 1672-6472; CODEN JXUUA E。国内邮发代号: 2-499; 国外邮发代号: Q723。
订阅	欢迎广大读者直接与本刊发行部联系订购, 我们将按期免费为您邮寄。
	汇款地址: (100101)北京市朝阳区北辰西路1号院3号中科院微生物所 B401
	收信人: 《 》编辑部; 电话: (010)64807521; E-mail: bjb@im.ac.cn
	请在附言处注明“订刊费”及所订期刊名称、年代、卷、期和数量