

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
52(6): 784-790; 4 June 2012
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

溶藻细菌 BS03 (*Microbulbifer* sp.) 对塔玛亚历山大藻生长及抗氧化系统的影响

傅丽君^{1,2}, 李东³, 吴承集², 郑天凌^{1*}

¹厦门大学滨海湿地生态系统重点实验室, 厦门 361005

²莆田学院环境与生命科学系, 莆田 351100

³华侨大学化工学院生物工程与技术系, 厦门 361021

摘要 【目的】研究溶藻细菌 BS03 (*Microbulbifer* sp.) 胁迫下塔玛亚历山大藻细胞光合作用、抗氧化酶系统和半胱氨酸蛋白酶 3 (Caspase-3) 变化, 探讨溶藻细菌 BS03 对塔玛亚历山大藻的溶藻机制。【方法】通过 0.5%、1.0%、1.5%、2.0% 不同终浓度 BS03 上清液处理藻细胞后 12、24、36、48h 取样, 测定溶藻过程藻细胞光合色素、叶绿素荧光效率、抗氧化酶系统、Caspase 酶活性变化。【结果】(1) BS03 上清液处理藻细胞后, 藻细胞叶绿素 a 含量和叶绿素荧光 Fv/Fm 比值随 BS03 上清液处理时间延长和浓度的增加呈逐渐下降趋势; 低浓度处理组藻细胞类胡萝卜素含量上升到一峰值, 高于对照组后逐渐回落, 而高浓度处理组类胡萝卜素含量呈下降趋势, 低于对照组; (2) 藻细胞抗氧化酶保护系统 (SOD 和 CAT) 活性随着 BS03 上清液处理浓度增加而升高, 但随着处理时间的延长呈现先上升后下降趋势。藻细胞膜脂过氧化产物 MDA 积累量随着 BS03 上清液处理时间延长和处理浓度的增加而显著提高; (3) 处理组藻细胞 Caspase-3 活性显著高于对照组, 呈现出类似程序性死亡特征。【结论】BS03 的抑藻机理可能是通过抑制藻细胞光合作用, 降低抗氧化酶活性、加大膜脂过氧化起到对塔玛亚历山大藻的溶解作用, 并呈现出类程序性死亡特征。

关键词: 塔玛亚历山大藻, 溶藻细菌, 光合色素, 抗氧化保护酶系统

中图分类号: Q938 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2012) 06-0784-07

塔玛亚历山大藻 (*Alexandrium tamarense*) 属于甲藻类, 能产生麻痹性贝毒 (Paralytic shellfish poisoning, PSP), 是全球各海域赤潮藻中的主要有毒藻, PSP 通过贝类在人体内产生富集作用从而威胁到人类的生命健康^[1]。溶藻细菌是一类通过细胞接触、侵入细胞等直接方式, 或分泌胞外活性物质如

蛋白质^[2]、多肽类物质^[3]、含氮化合物^[4]、氨基酸^[5]以及抗生素^[6]等间接方式抑制藻类生长, 或杀死藻类、溶解藻细胞的细菌统称^[7]。由于许多细菌的杀藻物质尚未被纯化和鉴定, 限制了对其溶藻机制的进一步研究, 目前国内外在溶藻机理方面的研究还较少, 一般认为间接溶藻的细菌通过作用于生理过

基金项目: 国家自然科学基金重点项目、面上项目 (40930847, 30940002); 滨海湿地生态系统教育部重点实验室开放基金 (CWel0902); 福建省自然科学基金 (2010J01223); 莆田市科技计划项目 [2011S09(4)]

* 通信作者。E-mail: microzh@xmu.edu.cn

作者简介: 傅丽君 (1975-), 女, 福建莆田人, 副教授, 主要从事微生物生态学方面的研究。Tel: +86-594-2696445, E-mail: lijun_fu@xmu.edu.cn

收稿日期: 2011-11-07; 修回日期: 2012-02-01

程如阻断呼吸链、抑制细胞壁合成、抑制孢子形成等方面,以达到抑制藻细胞生长或杀灭藻细胞的结果^[8]。

本课题组从漳江口红树林区分离出对塔玛亚历山大藻具有较强溶藻活性的细菌菌株 BS03 (*Microbulbifer* sp.) ,并对 BS03 的溶藻活性、溶藻物质若干特性进行了初步研究。本研究通过对溶藻细菌 BS03 胞外代谢产物对塔玛亚历山大藻的抗氧化系统、光合系统变化影响,探讨溶藻细菌对塔玛亚历山大藻的溶藻机制,为有效利用溶藻细菌控制赤潮的发生提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株和藻种: ① 供试菌株 BS03 分离自福建漳江口红树林区沉积物,经生理生化测试及 16S rDNA 序列分析鉴定为微泡菌属 (*Microbulbifer* sp.) ;采用 2216E 培养基^[9],于 150 r/min,28℃ 摇床振荡培养。② 供试藻种为产麻痹性贝毒的塔玛亚历山大藻 (*Alexandrium tamarense* ATGD98-006) ,由暨南大学水生生态研究所提供。采用 f/2 培养基^[10],光强 $50 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$,温度为 $20 \pm 1^\circ\text{C}$,昼夜比 L:D = 12 h:12 h 培养。③ 取一定体积菌株 BS03 发酵培养液 $10000 \times g$ 离心 10 min 得到培养上清液,处理终浓度以 BS03 上清液和添加藻液的体积比计算。

1.1.2 主要试剂和仪器: 甲醇(国产分析纯试剂);CAT、SOD、MDA 等试剂盒(南京建成生物工程公司);Caspase-3 活性检测试剂盒(碧云天生物技术研究);PGX-350B 智能光照培养箱(宁波赛福);Universal 32R 冷冻离心机(Hettich zentrifugen, Germany);UNICAM UV300 紫外分光光度计(Thermon Spetronic);高级浮游植物研究荧光仪(XE-PAM 上海泽泉科技有限公司)。

1.2 BS03 对塔玛亚历山大藻生长影响的参数测定

1.2.1 光合色素和叶绿素荧光效率测定: 取 0.5%、1.0%、1.5%、2.0% 终浓度 BS03 上清液处理组藻液和 2216E 培养基处理的对照组藻液各 50 mL,在室温下用布氏漏斗抽滤,抽滤后加入纯甲醇溶液萃取,于 4℃ 低温条件下避光静置 24 h,然后将萃取液于 $3000 \times g$ 离心 5 min,取上清液每隔 24h 分别于 664nm、630nm、480 nm 处测定吸收值,实验

设置 3 组平行。

叶绿素 a 含量计算采用 Jeffrey 和 Humphrey^[11] 的公式:

$$\text{Chl a} (\mu\text{g}/\text{cell}) = 11.47 \times A_{664} - 0.40 \times A_{630}$$

类胡萝卜素含量计算采用 Strickland 和 parsons^[12] 的公式: $\text{Carotenoids} (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}) = 4 \times A_{480}$

式中: A_{664} 、 A_{630} 、 A_{480} 分别为上清液在波长为 664、630 和 480 nm 条件下的吸收值。

用高级浮游植物研究荧光仪(XE-PAM)测定叶绿素荧光。激发光强为最大光强 $3000 \mu\text{E}^{-2} \cdot \text{S}^{-1}$,暗适应时间为 15 min,记录时间 5 s,室温下进行,每隔 24 h 测定一次,用可变荧光(Fv)与最大荧光(Fm)的比值 Fv/Fm 表示光合效能活性的大小。

1.2.2 藻细胞生理生化指标测定: 取 12 个锥形瓶分别加入 100 mL 塔玛亚历山大藻藻液,并加入一定量 BS03 离心上清液,使藻液中 BS03 上清液终浓度分别为 0.50%、1.00%、1.50%,混匀后置于光照培养箱中培养,以 2216E 培养基处理作为对照组,每处理设置 3 组平行。

取处理 12、24、36、48 h 后藻液 20 mL 于 4℃、 $3000 \times g$ 离心 5 min 浓缩藻液,藻泥加入预冷至 4℃ 的 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸缓冲液(pH7.5) 5 mL,冰浴中超声波破碎(工作 5 s,间隙 10 s,反复 10 次),破碎液于 4℃、 $1.2 \times 10^4 g$ 离心 15 min,取上清液即粗酶液测定酶活性。采用南京建成生物工程公司生产的试剂盒进行 CAT、SOD、MDA 等生理生化指标测定。

1.2.3 藻细胞 Caspase-3 蛋白酶活性检测: 分别取终浓度为 1.0% BS03 上清液处理 12 h、24 h、36 h 和 48 h 后塔玛亚历山大藻液 20 mL 于 4℃、 $3000 \times g$ 冷冻离心 5 min,弃其上清液,收集藻体;加入细胞裂解液振荡裂解 $2.5 \times 10^4 g$ 、4℃ 冷冻离心 10 min,取其上清液。采用 Caspase-3 活性检测试剂盒测定 Caspase-3 蛋白酶活性,以 400 nm 波长激发,505 nm 处测量其荧光吸收值。以 2216E 培养基处理组作为对照。

2 结果和分析

2.1 光合色素测定

叶绿素 a 含量与藻细胞的生物量密切相关,能反映细菌溶藻效果及藻细胞的生长状况。由图 1-A 可知,对照组塔玛亚历山大藻叶绿素 a 含量总体变

化幅度不大,处理组藻细胞叶绿素 a 含量随着 BS03 上清液处理浓度的增加和培养时间的推移呈逐渐下降趋势。低浓度处理组减少的幅度比高浓度处理组小,尤其在处理的初期较为明显。2.0% 浓度组处理 72 h 后,藻液中叶绿素 a 含量几乎为 0,显微镜下已观察不到塔玛亚历山大藻细胞,表明 BS03 胞外活性物质对塔玛亚历山大藻叶绿素 a 含量具有较大影响。

类胡萝卜素不仅是藻类细胞主要的捕光色素,也是生物体中的一种抗氧化剂,对细胞具有保护作用^[13],使细胞免受外界不良因子的伤害(如高光强等)^[14-17]。由图 1-B 可知,对照组塔玛亚历山大藻类胡萝卜素含量呈现先上升后下降的趋势,总体变化幅度较小,对照组培养 96h 后,类胡萝卜素含量下降 13.39%;0.5% 和 1.0% BS03 上清液处理 24 h,藻细胞类胡萝卜素含量达到一峰值,高于对照组,随后出现回落,但 0.5% 浓度处理组处理前 72 h 藻细胞类胡萝卜素含量仍高于对照组,1.0% 浓度处理组处理 48 h 藻细胞类胡萝卜素含量低于对照组;高浓度(1.5% 和 2.0%) BS03 胞外代谢产物处理后,随着培养的时间加长,藻细胞类胡萝卜素含量呈明显持续下降趋势,直至为 0。表明一定浓度 BS03 上清液会促进塔玛亚历山大藻类胡萝卜素的合成和积累,之后类胡萝卜素含量开始回落,随着处理浓度的增加而下降。

已有的研究表明,藻类在遭受环境胁迫时,反映其光合强度的叶绿素 a、类胡萝卜素等色素会发生变化^[18]。这可能与色素前体的周转和转化(如类胡萝卜素循环)有关^[19]。由上实验结果可知,BS03 胞外代谢产物对塔玛亚历山大藻的叶绿素 a、类胡萝卜素含量变化有一定程度的影响。胞外溶藻活性物质的介入极可能影响了细胞内光合色素的周转和转化,从而引起了某些色素的降解或合成等。

藻液的光系统 II (PS II) 的光化学效率(可变荧光(Fv)强度与最大荧光(Fm)强度之比,简称 Fv/Fm)。逆境胁迫对藻类光合作用的影响是多方面的,不仅影响光合机构,也影响光合电子的传递及其与暗反应有关酶的活性。利用叶绿素荧光动力学可以快速、灵敏、无损伤地探测逆境对藻类光合作用的影响。Fv/Fm 表示了 PS II 最大光化学量子产量,显示了 PS II 光能转化的最大效率。在非胁迫条件下此参数变化幅度很小,但在胁迫条件下,此参数变化

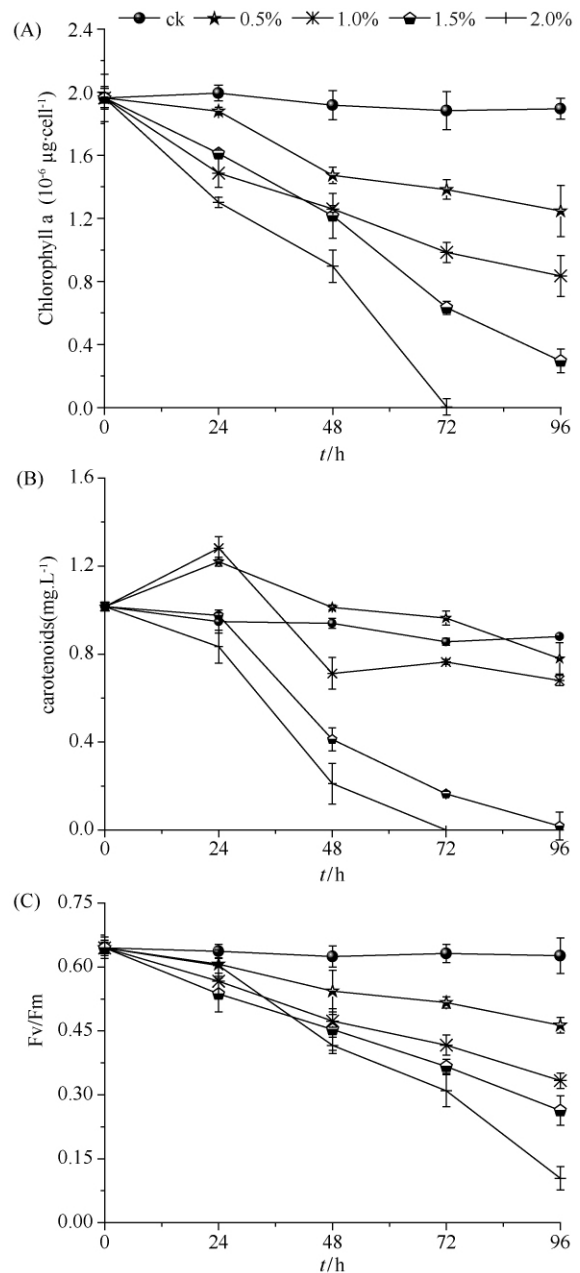


图 1 BS03 上清液对塔玛亚历山大藻细胞叶绿素 a 含量影响 (A)、类胡萝卜素 (B) 含量影响和叶绿素 a 荧光 Fv/Fm 的影响 (C)

Fig. 1 Effects of BS03 cell-free filtrate on Chlorophyll a (A), carotenoids contents (B) and Chlorophyll a fluorescence Fv/Fm (C) of *A. tamarensis*.

幅度较大。因此它也是反映藻类生长环境的重要参数之一^[20]。图 1-C 结果表明,对照组塔玛亚历山大藻叶绿素 a 荧光 Fv/Fm 值基本无变化,始终维持在正常甲藻的 Fv/Fm 值范围内^[21]。而不同浓度 BS03 上清液处理组 Fv/Fm 值随着处理时间的延长表现

出不同程度的下降趋势,且处理浓度越高下降越明显.2.0% BS03 上清液处理 96 h 后, F_v/F_m 值比对照降低了 83.82%。表明 BS03 上清液胞外活性代谢产物对塔玛亚历山大藻叶绿素 a 荧光 F_v/F_m 值有显著影响,可有效抑制藻类的光合系统,降低 PS II 的活性,从而导致藻细胞的光合效率下降。

2.2 藻细胞生理生化指标测定

SOD 是抗氧化系统中最重要的酶之一,它通过清除细胞中的 ROS 来减轻或消除 ROS 造成的氧化损伤。如图 2-A 所示,塔玛亚历山大藻细胞 SOD 含量随着 BS03 处理浓度的增加而上升,但相同浓度处理组 SOD 含量随着处理时间的延长呈现先上升后下降趋势,1.5% 终浓度 BS03 上清液处理藻细胞 12、24、36、48 h 后 SOD 含量分别为对照组 1.98、1.97、4.01 和 3.26 倍。表明随着 BS03 上清液处理浓度的升高启动了藻细胞的防御机制,使得藻细胞 SOD 活性上升,但随着处理时间延长,藻细胞无法调动防御机制产生更多的 SOD 以抵抗伤害,使得 SOD 活性开始下降。藻细胞 CAT 含量与处理浓度成正比,但随着处理时间的延长呈现先上升后下降趋势(图 2-B),1.5% 浓度处理 12、24、36、48 h 后藻细胞 CAT 活性分别为对照组 5.19、5.08、9.95 和 9.01 倍,这与藻细胞 SOD 含量变化趋势相似。

膜脂过氧化是毒素诱导氧化损伤的一个重要表征,而 MDA 作为膜脂氧化的产物之一,因此可以 MDA 含量表示膜脂过氧化水平。如图 2-c 所示,藻细胞 MDA 含量随着 BS03 上清液处理浓度上升和处理时间的延长而上升,且处理组藻细胞 MDA 含量在整个实验过程中均高于对照组,1.5% 浓度处理 12、24、36、48 h 后藻细胞 MDA 活性分别为对照组 1.43、1.61、1.86 和 2.30 倍,而不同处理时间对照组 MDA 含量差异不大。说明菌株 BS03 胞外活性物质对塔玛亚历山大藻的膜脂过氧化作用十分强烈。

2.3 藻细胞 Caspase-3 蛋白酶活性检测

半胱氨酸蛋白水解酶(Caspase)是最特殊的蛋白水解酶之一,在外界因素的影响下,Caspase 蛋白酶会通过某种渠道生成和累积,在细胞内发生一系列的酶水解反应,导致细胞新陈代谢通路出现非正常状态^[22],Caspase 家族成员被认为是动物细胞程序性死亡的执行者,尤其是 Caspase3 活性升高通常被认为是细胞已经启动死亡程序进入程序性死亡过

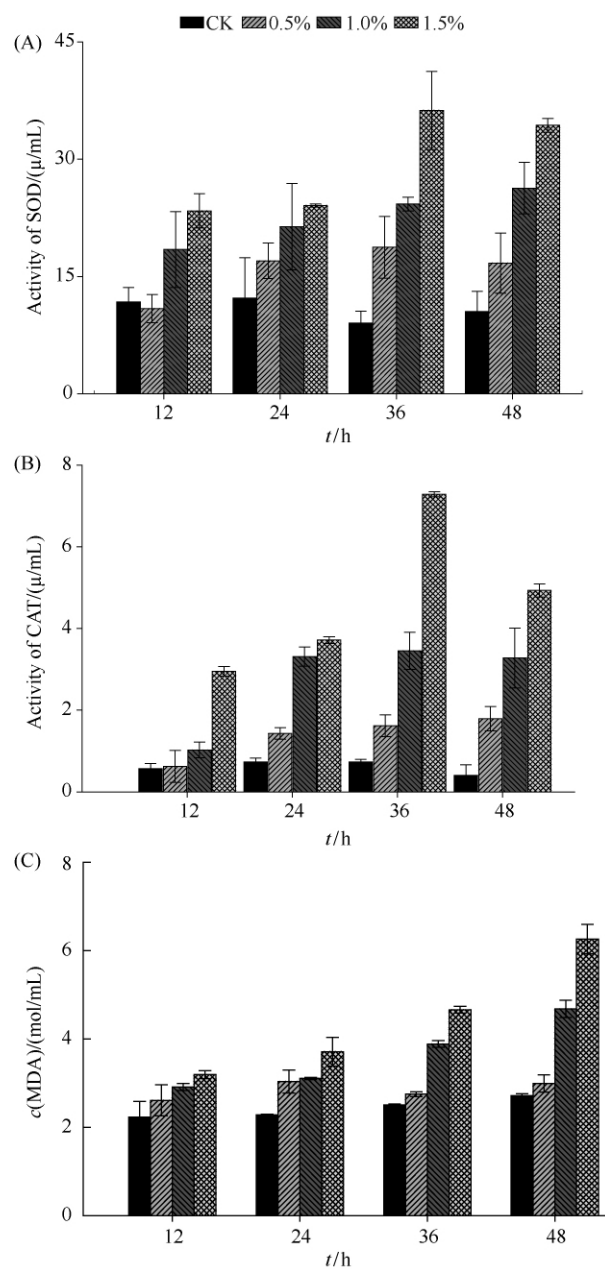


图2 BS03 上清液对塔玛亚历山大藻细胞 SOD 活性 (A)、CAT 活性(B) 和 MDA 活性(C) 的影响

Fig. 2 Effects of BS03 cell-free filtrate on the SOD (A), CAT activity (B) and MDA activity (C) of *A. tamarense*.

程。基因组序列分析确定,在藻类、高等植物和细菌中存在 Caspase 同源物 Metacaspase, Caspase-3 类似蛋白酶在浮游植物死亡过程中具有重要作用。Bidle 等检测到丝状蓝藻 *Trichodesmium* sp. IMS101 在 Fe 缺乏或高光强照射一段时间后能引起细胞内 Caspase 活性增加和细胞死亡^[23]。

图3 结果表明,塔玛亚历山大藻细胞 Caspase-3

含量随着 BS03 上清液处理浓度升高和培养时间的延长而增加,且含量均高于对照组。0.5%、1.0% 和 1.5% 终浓度处理 36h, Caspase-3 含量分别为对照组的 1.17、1.38 和 1.49 倍; 培养 12、24、36、48h 后 1.5% 终浓度处理组藻细胞 Caspase-3 含量分别为对照组 1.34、1.35、1.49 和 1.56 倍,而对照组 Caspase-3 含量变化不大。表明藻细胞在 BS03 上清液溶藻活性物质的胁迫下可能经历细胞程序性死亡途径。

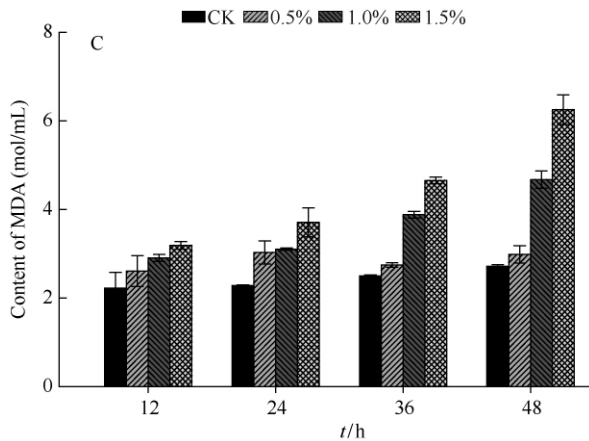


图3 BS03 上清液对塔玛亚历山大藻细胞 Caspase-3 活性的影响

Fig. 3 Effect of BS03 cell-free filtrate on Caspase-3 activity of *A. tamarense*.

3 讨论

藻类在正常代谢过程和各種环境胁迫下均能产生活性氧和自由基,活性氧和自由基的积累会引起细胞结构和功能的破坏。为了防止体内过多活性氧对机体伤害发展了抗氧化防御系统,它除了包括起重要作用的酶性系统(如 SOD、CAT 和 GPx)以外,还包括直接与体内过多活性氧反应、降低体内活性氧含量的非酶系统,还原型谷胱甘肽(GSH)、甘露醇、类胡萝卜素等就是其中的重要组份,并且发挥着重要的作用。SOD 酶是生物体防护机制的中心酶,在清除超氧阴离子自由基时,能将超氧阴离子(O_2^-)快速歧化为 H_2O_2 和 $O_2^{[21]}$; CAT 能促进细胞代谢产生的对机体有害的 H_2O_2 的分解,避免了 H_2O_2 在体内积累^[24]; 类胡萝卜素是有效的活性氧猝灭剂,它可以有效地中断活性氧链式反应,从而防止活性氧对有机体的进一步伤害。

研究结果表明,溶藻细菌 BS03 胞外代谢产物

作用塔玛亚历山大藻后,藻细胞光合作用能力下降、抗氧化酶活性变化、MDA 积累量的提高与藻细胞结构的损伤具有一致性。在一定浓度范围内,BS03 上清液促进塔玛亚历山大藻类胡萝卜素合成和积累,类胡萝卜素含量升高,激活了抗氧化非酶系统的活性,但随着处理时间延长和处理浓度的增加,降低了抗氧化非酶系统的活性,表现出类胡萝卜素含量下降直至检测不出。BS03 上清液处理前期,刺激了藻细胞的抗氧化系统的启动,使 SOD 和 CAT 都有一定的增长趋势;到了处理后期,藻细胞抗氧化系统被破坏,导致抗氧化酶 SOD、CAT 含量降低,故未能完全去除溶藻活性物质诱导产生的活性氧和自由基。而 MDA 作为膜脂过氧化的产物之一,其在细胞内的浓度可表示脂质过氧化的强度和膜系统的伤害程度^[21],研究结果表明,随着处理浓度增加及处理时间的延长 MDA 含量呈上升趋势,这是因为 SOD、CAT 和类胡萝卜素未能有效去除藻细胞内积累的活性氧和自由基,发生了氧化胁迫,藻细胞膜系统受到破坏,证明 BS03 胞外代谢产物的溶藻机理与破坏藻类抗氧化系统有关。Caspase-3 活性作为细胞 PCD 发生的另一个证据,参与了细胞内发生的一系列酶水解反应,导致细胞新陈代谢通路出现非正常状态,本研究中处理组藻细胞 Caspase-3 含量显著高于对照组。

以上结果表明 BS03 的抑藻机理可能是通过抑制藻细胞光合作用,降低保护抗氧化酶活性、加大膜脂过氧化起到对塔玛亚历山大藻的溶解作用,并呈现出类似程序性死亡特征。但关于菌株 BS03 分泌的溶藻活性物质的特性和结构确认,及通过分子生物学手段以及荧光显微技术和超显微技术进行溶藻细菌 BS03 对塔玛亚历山大藻藻细胞生理和形态诱导的溶藻机理研究有待于进一步探讨。

参考文献

- [1] 曹宾霞,王耀兵,赵水晶,关春江,郭皓,刘述锡,赵啸. 塔玛亚历山大藻溶藻细菌筛选方法的初步研究. 海洋环境科学 (*Marine Environmental Science*), 2008, 27(2): 186-189.
- [2] Lee S, Kato J, Takiguchi N, Kuroda A, Ikeda T, Mitsutani A, Ohtake H. Involvement of an extracellular protease in algicidal activity of the marine bacterium *Pseudoalteromonas* sp. Strain A28. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(10): 4334-4339.

- [3] Jeong SY , Ishida K , Ito Y. Bacillamide , a novel algicide from the marine bacterium ,*Bacillus* sp. SY-1 , against the harmful dinoflagellate , *Cochlodinium polykrikoides*. *Tetrahedron Letters* , 2003 (4) : 8005-8007.
- [4] Berger PS , Rho J. Gunner HB. Bacterial suppression of chlorella by hydroxylamine production. *Water Research* . , 1979 , 13(1) : 267-273.
- [5] Banin E , Khare SK , Naider F , Rosenberg E. Proline-rich peptide from the coral pathogen *Vibrio shiloi* that inhibits photosynthesis of *Zooxanthellae*. *Applied and Environmental Microbiology*. 2001 , 67(4) : 1536-1541.
- [6] Kawano Y , Nagawa Y , Nakanishi H. Production of thiotropocin by a marine bacterium , *Caulobacter* sp. and its antimicrobial activities. *Journal of Marine Biotechnology* , 1997 , 34(5) : 225-229.
- [7] 吴刚, 席宇, 赵以军. 溶藻细菌研究的最新进展. 环境科学研究 (*Research of Environmental Sciences*) , 2002 , 15(5) : 43-46.
- [8] 连玉武, 王艳丽, 郑天凌, 洪华生. 赤潮科学中藻菌关系研究的若干进展. 海洋科学 (*Marine Sciences*) , 1999 , 23(1) : 35-38.
- [9] Zobel CE. Marine microbiology. Chronica Botanica Company , Waltham , M A. ,1946 240.
- [10] 李永函, 赵文. 水产饲料生物学. 大连: 大连出版社, 2002: 286.
- [11] Jeffrey SW , Humphrey GF. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a , b , c₁ and c₂ in higher plants , algae and natural phytoplankton. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen* , 1975 , 167: 191-194.
- [12] Strickland J. D. H. , Parsons T. R. A practical handbook of seawater analysis. *Fisheries Research Board of Canada* . 1972 , 1-310
- [13] 李子杰, 姜文君, 于明, 周云龙, 赵宇亮, 柴之芳, 张智. LaCl₃ 对轮藻光合色素含量及抗氧化酶活性的影响. 中国稀土学报 (*Journal of the Chinese Rare Earth Society*) , 2006 , 24(1) : 192-195.
- [14] Guillard RRL , Murphy LS , Foss PE. *Synechococcus* spp. as likely zeaxanthin-dominant ultraphytoplankton in the North Atlantic. *Limnology and Oceanography* , 1985 , 30(2) : 412-414.
- [15] Bidigare RR. Ondrusek ME , Kennicutt MC. Iturriaga R , Harvey HR , Hoham RW. Evidence for a photoprotective function for secondary carotenoids of snow algae. *Journal of Phycology* , 1993 , 29 (4) : 427-434.
- [16] Johnsen G , Sakshaug E. Bio-optical characteristics and photoadaptive responses in the toxic and bloom-forming dinoflagellates *Gyrodinium aureolum* , *Gymnodinium galatheanum* , and two strains of *Prorocentrum minimum*. *Journal of Phycology* , 1993 , 29(5) : 627-642.
- [17] 陈思嘉, 陈填烽, 杨芳, 郑文杰, 白燕. 水分胁迫对钝顶螺旋藻光合色素和生长的影响. 暨南大学学报: 自然科学版 [*Journal of Jinan University (Natural Science Edition)*] , 2005 , 26(5) : 705-711.
- [18] 刘碧云, 周培疆, 李佳洁, 吴兆录, 宋立荣. 丙体六六六对斜生栅藻生长及光合色素和膜脂过氧化影响的研究. 农业环境科学学报 (*Journal of Agro-Environment Science*) , 2006 , 25(1) : 204-207.
- [19] 王大志, 王海黎, 李少菁, 程兆第, 金德祥. 微量元素锗对四种微藻光合色素的影响. 生态学报 (*Acta Ecologica Sinica*) , 2000 , 20 (3) : 482-484.
- [20] 李晓, 冯伟, 曾晓春. 叶绿素荧光分析技术及应用进展. 西北植物学报 (*Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*) , 2006 , 26(10) : 2186-2196.
- [21] 李小彩, 裴海燕, 胡文容. 溶藻菌及溶藻物质研究进展. 工业水处理 (*Industrial Water Treatment*) , 2007 , 27(6) : 10-13.
- [22] Hitomi J , Katayama T , Taniguchi M , Honda A , Imaizumi K , Tohyama M. Apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress depends on activation of caspase-3 via caspase-12. *Neuroscience Letters* , 2003 , 357: 127-130.
- [23] Berman-Frank I , Cullen JT , Shaked Y , Sherrell RM , Falkowski PG. Iron availability , cellular iron quotas , and nitrogen fixation in *Trichodesmium*. *Limnology and Oceanography* 2001 46(6) : 1249-1260.
- [24] Banerjee BD , Seth V , Bhattacharya A. Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicology Letters* , 1999 , 10 (7) : 33-47.

Effects of algicidal bacterium BS03 (*Microbulbifer* sp.) on the growth and antioxidant systems of *Alexandrium tamarense*

Lijun Fu^{1 2} , Dong Li³ , Chengji Wu² , Tianling Zheng^{1*}

¹ Key Laboratory of Ministry of Education for Coast and Wetland Ecosystems , School of Life Sciences , Xiamen University , Xiamen 361005 , China

² Department of Environment and Life Science , Putian University , Putian 351100 , China

³ Department of Bioengineering & Biotechnology , College of Chemical Engineering , Huaqiao University , Xiamen 361021 , China

Abstract [Objective] We studied the algicidal mechanism of extracellular substances of algicidal bacteria strain BS03 (*Microbulbifer* sp.) on photosynthetic characteristics , antioxidant enzyme system and cysteine-dependent aspartate specific protease-3 (Caspase-3) of *Alexandrium tamarense*. [Methods] We tested photosynthetic pigments , chlorophyll fluorescence efficiency , antioxidant systems and caspase-3 activity in the algae cells treated with 0.5% , 1.0% , 1.5% and 2.0% BS03 cell-free filtrate after 12 , 24 , 36 and 48 h. [Results] (1) The chlorophyll-a and chlorophyll fluorescence efficiency Fv/Fm decreased with the increase of BS03 cell-free filtrate and treatment time. Carotenoids contents of *A. tamarense* cells treated with low BS03 (0.5% and 1.0%) cell-free filtrate were higher than the control. (2) Antioxidant enzyme activities varied as treatment time and concentration. Malodialdehyde (MDA) contents increased significantly with BS03 cell-free filtrate treatment. (3) Caspase-3 protease activities of algal cells increased by BS03 cell-free filtrate. [Conclusion] BS03 inhibited the photosynthesis whereas enhanced the lipid peroxidation of the cellular membrane of *Alexandrium tamarense* , indicating its algicidal activity.

Keywords: *Alexandrium tamarense* , algicidal bacteria , photosynthetic pigment , antioxidant defense system

(本文责编: 王晋芳)

Supported by the National Nature Science Foundation (40930847 , 30940002) , by the Open Fund of the Key Laboratory of the Ministry of Education for Coastal and Wetland Ecosystems of Xiamen University (cwel0902) , by the Nature Science Foundation of Fujian Province (2010J01223) and by the Scientific and Technological Project of Fujian Province [2011S09(4)]

* Corresponding author. Tel: +86-594-2696445; E-mail: microzh@xmu.edu.cn , lijun_fu@xmu.edu.cn

Received: 7 November 2011 / Revised: 1 February 2012