

海洋微生物的多样性在赤潮调控中的利用

Marine microbial diversities and its application in red-tide control

曹晓星¹, 苏建强¹, 郑天凌^{1,2}, 俞志明³, 宋秀贤³

(1. 厦门大学 生命科学学院, 福建 厦门 361005; 2. 近海海洋环境科学国家重点实验室, 福建 厦门 361005; 3. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071)

中图分类号: X55

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2007)05-0063-07

海洋发生赤潮是由多种因素相互作用的一个极其复杂的过程,丰富的营养盐和微量重金属元素是形成赤潮的物质基础^[1]。近年来,随着人口的持续增长和经济的高速发展,造成某些水体交换条件不良的海湾富营养化,赤潮的发生有逐年增加的趋势^[2]。应用微生物方法控制赤潮越来越受到人们的关注。作者就该领域的研究概况做一综述、评析与展望。

1 生物多样性与微生物资源

生物多样性是人类赖以生存和发展的基础,它不仅提供了人类生存不可缺少的物质资源,也构成了人类生存和发展的生物圈环境。保护和拯救海洋生物多样性,是实现人类社会可持续发展的基础^[3]。

微生物是地球上仅次于昆虫的第二大类的生物,已知与人类关系密切的种类就约有 10 万种,但微生物已知种占估计种的比例却还很小,细菌、真菌及病毒的已知种占估计种的比例分别仅为 5%、10% 和 4%^[4]。Dykhuisen^[5]认为只有不到 1% 的自然存在的微生物在实验室条件下才是可培养的, Torsvik^[6]认为自然环境中的微生物 99.5% ~ 99.9% 的种类至今是不可培养的。因此,如何利用已知的和未知的微生物及其丰富的多样性资源,研究其在赤潮的生消过程中的调控作用,已越来越受到人们的重视。

2 海洋微生物多样性与赤潮

海洋微生物多样性 (marine microorganisms

diversity) 是指所有海洋微生物种类、种内遗传变异和它们的生存环境的总称^[3]。目前,据估计海洋微生物可达 0.1 ~ 2 亿种^[7],对海洋微生物物种多样性的研究一直是海洋工作者和微生物工作者研究的热点。海洋微生物因其具有的遗传多样性和生态系统多样性,特有的强防御力和识别能力使得海洋中某些微生物能在局部环境中的特定条件下更好地生存和繁殖。对不利于海洋生态系统稳定的物质和物种实行相应的措施,抑制或杀灭过度繁殖的赤潮藻,降解和矿化海洋中的有机污染物和异生质,从而确保了海洋环境中能量、物质循环的稳定和生物种类的多样性作用。正是由于海洋微生物多样性的作用,为微生物防治赤潮及其调控提供了大量可能的途径。因此怎样利用海洋微生物的多样性,探讨其多样性的存在在赤潮发生与消亡过程中的作用,并有效地利用这一多样性来对赤潮进行强有力地调控,是目前人们所关心的热点。

收稿日期: 2005-03-10; 修回日期: 2005-07-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30370276); 国家重点基础研究发展规划项目 (2001CB409710); 高等学校博士点专项科研基金项目

作者简介: 曹晓星 (1980-), 女, 浙江温州人, 硕士研究生, 主要从事海洋环境微生物研究, E-mail: caoxiaoxing@sina.com; 郑天凌, 通讯作者, 教授, 博导, E-mail: wshwzh@jingxian.xmu.edu.cn

3 海洋微生物与赤潮生物生态关系的多样性

赤潮藻类的生长和增殖,除了与环境中温度、光照、盐度、营养物等理化因子有密切关系外,还与海洋细菌有密不可分的联系。在赤潮藻类消过程中伴随着许多微生物的共同作用。

海洋细菌同藻类在时空上紧密地结合在一起,它们分别能合成不同类型的代谢物,而这些代谢物又能对双方分别产生有利或有害的影响^[8],细菌代谢物能特异地阻碍甚至中止藻类的繁殖^[9],同时也可能促进藻类的增殖,在其中可能存在着某种反馈机制在控制藻类和海洋细菌种群动力学过程中起着重要作用。

3.1 微生物与赤潮藻之间互惠互利关系的多样性

Furuki 等^[10]发现,当古老卡盾藻 (*Chattonella antiqua*) 水华达到最大细胞密度时,该区域中存在着能促进该藻生长的细菌类群,而相反的,当古老卡盾藻水华衰退时,其周围的细菌类群则抑制该藻的生长。他还发现随着优势藻种的变化,细菌种群不断替换。细菌同藻类之间这种在细胞水平上的相互关系,正是众多调节藻类种群增长的因素之一,并接着影响了某个特定藻种成为该浮游植物群落中的优势种^[11,12]。

这种细菌类群与赤潮藻之间相互促进、互惠互利的共生关系,表现出来可能有以下几种的作用形式:

3.1.1 细菌为浮游生物提供营养盐

细菌不仅为藻类的生长提供无机氮和磷,分解环境中的有机物为藻类的生长提供营养,还可把三价铁还原为易溶性的二价铁,为藻类的生长提供必需的铁元素,并合成藻类必需的生理活性物质如维生素 B12^[11,13,14]。

3.1.2 细菌分泌一些类似于生长素类的激素促进藻类生长

郑天凌等^[2]在厦门西海域获得了 3 株能有效抑制塔玛亚历山大藻 (*Alexandrium tamarense*) 藻甚至杀死它的菌株,但是,低浓度的细菌滤液则表现为明显促进藻生长的结果,只有在高浓度下的细菌滤液才具有相当强烈的抑藻作用,推测可能是细菌分泌了一些类似于生长素类的物质。

3.1.3 细胞外共生

Riquelme 和 Ishida^[15]1989 年研究发现,当海水发生冰河拟星杆藻 (*Asterionellopsis glacialis*) 赤潮

期间,细菌优势种群为假单胞菌 *Pseudomonas* 022,且冰河拟星杆藻的生长在外加 *Pseudomonas* 022 时受到显著促进。据研究 *Pseudomonas* 022 分泌的一类糖蛋白是促进 *A. glacialis* 生长的物质。而细菌 *Pseudomonas* 022 的生长也受到冰河拟星杆藻产生的细胞外有机碳主要是溶解态氨基酸的促进^[14]。

3.1.4 细胞内共生

细菌既可存在于藻细胞核中,也可存在于细胞质和细胞器中。早在 1982 年, Silva^[16]就提出了甲藻内共生细菌产毒的假说,直到 1987 年, Kodama^[17]实验组才首次从一株高毒的塔玛亚历山大藻中分离到一株产毒细菌。它可以在独立培养的条件下产生麻痹性贝毒毒素。之后, Doucette 等^[18]研究了分离出的产毒细菌,认为它们都应属于交替单胞菌属 (*Aalteromonas*) / 假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 类中的一种,它们产生的毒素组成相对稳定,这些证据表明,与产毒甲藻共存的细菌中有的可以产生麻痹性贝毒。

4 赤潮消亡中不同种类微生物及其作用方式多样性

在赤潮藻类消过程中伴随着许多微生物的共同作用,赤潮藻与细菌,赤潮藻与藻病毒、噬藻体、蛭弧菌,甚至赤潮藻与其它藻类之间的相互关系都是多种多样的,在不同的环境条件、不同的生物浓度下表现为不同的作用效果(促进藻的生长和藻毒的分泌或溶藻、杀藻、抑藻等)。以细菌为例,一方面细菌吸收藻类产生的有机物质,并为藻类的生长提供营养盐和必要的生长因子,从而调节藻类的生长环境;另一方面细菌也可通过直接的或间接的作用抑制藻细胞的生长,甚至裂解藻细胞,从而表现为杀藻效应。

用包括病毒、细菌、藻类等微生物去对付有害藻类,一般来说,对藻的生长的抑制和藻细胞的溶解,主要有以下几种情况:

4.1 蛭弧菌的作用

大量研究表明,以海洋微生物为寄主的寄生菌——蛭弧菌广泛分布于近海海洋环境中,由于它可“吃掉”有害宿主细胞而具有很大应用潜力。它还可进入藻细胞内而溶藻,这种侵入引起了宿主细胞的自溶。其侵染过程与噬菌体感染细菌在某种程度上有相似之处。据推测,铜绿微囊藻水华的迅速消失可能与这类特殊细菌的专性感染有关^[19]。还有研究表明蛭弧菌会分

泌有毒物质于水环境中,从而抑制某些藻类的生长^[20]。

4.2 藻病毒或噬藻体的作用

病毒在赤潮生物种群动态,赤潮的发生、消亡中也起着一定的作用。病毒类似颗粒(VLP)在12~14个属的50种真核藻类中都有发现^[21]。在自然水体中收集到浮游植物细胞内病毒颗粒表明,在某些浮游植物种的大量死亡中病毒起很大的致命性作用。

藻类病毒最早是在蓝藻中报道的^[22]。1963年 Safferman 和 Morris^[23]首先报道了同时感染鞘丝藻(*Lynbya*)、席藻(*Phormidium*)及织线藻(*Plectonema*)的LPP病毒。随着越来越多的蓝藻病毒和真核藻类病毒的分离和鉴定,人们通常称蓝藻病毒为“噬藻体”(cyanophage)^[24],其dsDNA基因组大小约30~60kb;而真核藻类病毒是一类大病毒,绝大多数为多角体粒子(polyhedral particle),因此通常称为“藻病毒”(phycovirus),其dsDNA基因组大小约180~560kb^[25]。

海洋环境中存在着大量病毒,它们在某些情况下表现出对微食物环中的C、N流有显著影响^[26,27]。病毒类似颗粒(VLP)在12~14个属的50种真核藻类中都有发现^[28]。此外在自然水绿色鞭毛藻中也曾发现病毒^[29]。

Nagasaki等^[30]从日本Nomi海湾分离到一种病毒,这种病毒能够感染赤潮引发种赤潮异弯藻(*Heterosigma akashiwo*),该病毒颗粒可以感染并裂解两株赤潮异弯藻,对赤潮异弯藻具有较高的特异性,且不会感染其他种类的浮游植物。而且,3株从日本Hiroshima湾分离到的赤潮异弯藻具有对该病毒的抗性,表明这种病毒并非种特异性而是具有株特异性。

日本的Nagasaki等^[31]于1999年提出利用微生物制剂控制赤潮的方法,他发现赤潮异弯藻病毒(*Heterosigma akashiwo virus*, HaV)的纯系01(HaV101)能专一性地去除赤潮异弯藻H93616。Bratbak等^[32]研究也表明病毒在由海洋藻类霍希尼艾氏藻(*Emiliania huxleyi*)引起的赤潮消亡过程中起着重要作用,他们在溶解细胞内和周围发现自由病毒颗粒和病毒类似颗粒存在,同时,赤潮在消退过程中伴随着病毒数量的增多。

4.3 以藻抑藻或杀藻

日本学者发现将绿藻(*Dunaliella* sp.)固定在高分子上与赤潮藻结合,4d后50%的赤潮藻死亡。赤潮藻

通常呈梨形,与绿藻结合后变为圆形,随后细胞破裂,这可能是绿藻的外代谢物破坏了赤潮藻细胞^[33]。微绿球藻(*Nanochloris eucaryotum*)分泌的Aponins,也可溶解产毒赤潮藻(*Gymnodinium breve*)^[34]。

4.4 细菌作用的多样性

4.4.1 粘细菌的溶藻作用

近年来,不少国外研究者认为:水华和赤潮的突然消亡可能与溶藻细菌的感染有关^[35-37]。早在1924年,Geitler^[38]就报道了一种粘细菌寄生在刚毛藻上导致了藻的死亡。

Daft等^[39,40]1975年发现,9种从废水中分离出的粘细菌可溶解鱼腥藻(*Anabaena*),束丝藻(*Aphanizomenon*),微囊藻(*Microcystis*)及颤藻(*Oscillatoria*)的不少种。其溶藻机理是粘细菌直接与宿主细胞接触,或通过分泌可溶解纤维素的酶消化掉宿主的细胞壁,进而逐渐溶解整个藻细胞。Shilo等^[41]用实验证实了粘细菌可溶解很多种类的蓝藻。Sawayama^[42-44]等发现革兰氏阴性菌NT,可抑制莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)的接合反应。这种细菌也可以抑制亚历山大藻(*Alexandrium catenella*)的休眠结合子结构。

4.4.2 细菌释放有毒物质到环境中,非选择性地杀伤藻类细胞

研究表明假单胞菌(*Pseudomonas*)^[45],杆菌(*Bacillus*)^[46],蛭弧菌(*Bdellovibrio*),黄杆菌(*Flavobacterium* sp.)和*Saprospira* sp.^[20]可分泌有毒物质释放于水环境中,抑制某些藻类如甲藻和硅藻等的生长。

铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)也可产生大量的抗生素类物质如扩散性吩嗪色素物质,对其他细菌和藻类的生长都有抑制作用^[47]。

斯氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)可分泌高活性的抑藻物质^[48]。这些物质可杀死顽固的古老卡盾藻。Imai等^[49]在日本Hiroshima海湾发现4株*Alteromonas*属的细菌也可以杀死古老卡盾藻。从*P.stutzeri*中提取出的一种“甲藻生长抑制剂(DGI)”不仅活性较高,且毒性较稳定,并且对鱼类无害,是比较理想的杀藻物质^[50]。

4.4.3 细菌释放有关的酶类,特异性地杀伤藻类细胞

Middelboe等^[47]研究富营养化的湖水发生的水华时发现,随着水华的发展,水体中细菌的细胞外分泌物的量增加一倍以上,而细菌胞外酶的活性也有显著的增强。这表明细菌可能是通过细胞外分泌物和特

殊的胞外酶而杀藻的。

4.4.4 细菌浓度不同作用效果也不相同

郑天凌等^[2]在厦门西海域获得了 3 株能有效抑制塔玛亚历山大藻甚至杀死它的菌株, 它们分别为 S₅、S₇ 和 S₁₀。S₅ 和 S₁₀ 对塔玛亚历山大藻的作用是比较显著和有规律性的。其中 S₁₀ 对藻细胞的抑制和促进都最明显(即高浓度下的 S₁₀ 细菌滤液具有相当强烈的抑藻作用, 较低浓度的细菌滤液则明显地促进藻的生长)。另外, 在延滞期加入细菌 S₁₀ 滤液可以较为有效地控制藻细胞的增殖。

在细菌对赤潮藻细胞叶绿素 a (Chl-a) 影响时, 也得到了与上述情况相类似的情形。在较高浓度的 S₁₀ 滤液处理下, S₁₀ 具有明显的降低塔玛亚历山大藻中 Chl-a 含量的作用, 较低浓度时则又有了对 Chl-a 含量促进的倾向。进一步的研究显示细菌滤液对赤潮藻生长的各个阶段的作用效果也是有所区别的。细菌 S₇ 滤液具有降低塔玛亚历山大藻中的 Chl-a 含量的作用, 并且在藻生长前期的作用比后期的更为明显^[51]。

4.4.5 细菌同藻竞争有限的营养物质, 从而抑制其生长

已有不少研究表明, 细菌对维持藻类生物量的平衡有着非常重要的作用, 它能与藻竞争营养物质^[38]。有报导在养殖区内投入光合细菌进行繁殖, 消耗水中营养盐, 可控制富营养化和赤潮的发生^[52]。

因此, 细菌与赤潮藻的关系是多样性的, 郑天凌等^[53]在实验中利用 FCM 法和镜检法测定了共培养条件下的海洋细菌对赤潮藻的生长和增殖的影响。结果表明, 在不同菌种、相同菌种不同浓度、以及不同处理方式的抑藻效果等都存在着种属特异性和差异。

5 海洋微生物抑藻、杀藻活性物质的多样性

在前面讲到细菌的作用时就讲到有些细菌会在特定的情况下分泌各种特异或非特异作用的抑藻、杀藻活性物质, 如表 1。

表 1 各种微生物分泌的抑藻、杀藻活性物质

| 种类 | 分泌产物 | 作用对象 | 作用效果 | 参考文献 |
|---|---------------------------------|----------------|-----------------|------|
| 铜绿假单胞菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>) | 大量的抗生素类物质如扩散性吩嗪色素物质、1-羟基吩嗪和氧氟菌素 | 其它细菌和藻类, 蓝藻和绿藻 | 抑制生长的作用, 特异性杀藻 | [47] |
| 弧菌(<i>Vibrio alginifestus</i>) | 甲藻生长抑制剂 (DGI) | 古老卡盾藻 | 杀藻, 但毒性不够稳定 | [49] |
| 斯氏假单胞菌 (<i>P. stutzeri</i>) | 甲藻生长抑制剂 (DGI) | 古老卡盾藻 | 杀藻, 毒性稳定且对鱼类无害 | [54] |
| S ₁₀ 芽孢杆菌 (<i>Bacillus halmapalus</i>) \ P ₄₂ | 生长素类物质 | 塔玛亚历山大藻 | 高浓度下抑藻, 低浓度促进生长 | [55] |
| 斯氏假单胞菌 | 高活性的抑藻物质 | 古老卡盾藻 | 抑藻杀藻 | [48] |

由表 1 可知这些活性物质的种类是多样的, 而且随着研究的深入同时还发现它们作用的机理也是多种多样的, 主要有以下几种形式:

(1) 细菌通过分泌抗生素或类似作用的物质, 作用于生理过程如阻断呼吸链、抑制细胞壁合成、抑制孢子的形成等方面, 以达到抑制藻细胞生长或杀灭藻细胞的结果。细菌对藻类的这些抑制作用使人们开始考虑细菌防治赤潮的可能途径^[2,56,57]。

(2) 细菌是通过细胞外分泌物如特殊的胞外酶而杀藻^[47]。

(3) 细菌在其生长的过程中分泌了某些对藻类生长起调控作用的物质。这种物质的作用类似于生长

激素, 即高浓度表现为抑制作用, 低浓度表现为促进作用^[2]。

另外, 在赤潮的生消过程中, 利用微生物的多样性对赤潮进行调控的过程本身是极其复杂的, 在重视微生物与其作用对象——赤潮生物之间关系的多样性; 作用效果、机理的多样性; 作用者和被作用者两者种群结构多样性等等的同时, 要达到理想的调控目的, 还需要关注并考虑其它影响因子的多样性在这一过程中的参与和影响。赤潮藻类的生长和增殖, 与环境中的温度、光照、盐度、营养物等理化因子都有着密切的关系。不同 pH 和盐度下海洋细菌对赤潮生物生长和产毒的影响就不相同。相关研究结果表明,

塔玛亚历山大藻株在不同盐度和 pH 条件下,藻细胞产毒和生长都有显著差异^[58]。

因此,虽然海洋微生态环境中的群落结构与构成,种群密度等,都与赤潮藻类的生消有着密不可分的联系,但是环境因素也不容忽视。在研究过程中,既要考虑到海洋环境中的其它生物因子的影响,同时也要对环境因子给予足够的重视。

6 利用海洋微生物多样性调控赤潮灾害的新思考

(1) 海洋微生物是自然界给予我们的一大宝藏,它的种群多样性、生理生化类群多样性、生态功能多样性、遗传特征多样性等特点以及同赤潮藻类错综复杂的生态关系,在赤潮生消过程中有着其重要的作用^[59,60]。又由于它是食物链的最底层,在整个海洋生态系统能流、物流的运输与转换中有着至关重要的地位;研究和利用其多样性将会为人们研究海洋、开发海洋和治理赤潮提供极大的助益。

(2) 目前对于微生物资源的保护显然还没有像对动、植物的保护那样有效。更由于大部分微生物的不可培养性使得人们对其所知甚少,也增加了对其进行保护和研究的难度。那么,针对赤潮灾害发生的新态势、新特点,采用抑藻基因调控赤潮的新思路,利用宏基因组学技术开发源于海洋微生物的抑藻基因,构建宏基因组文库或建立与赤潮生消有关的专门的微生物资源库,将会使我们对赤潮前后海洋微生态系统平衡的建立、污染水体的自净等研究有极大的助益。

(3) 在筛选出抑藻活性克隆;构建抑藻菌;探讨抑藻菌同赤潮藻生长和产毒之间生态关系,进行有效抑藻菌的生物化学、分子生物学研究,查明抑藻基因抑藻生长的机理和过程的同时,还应考虑到海洋微生物类群在赤潮生消过程中作用方式和机制机理的多样性,海洋微生物群落结构、组成的变化,以及环境因子对微生态多样性和赤潮生消的影响。

(4) 除了主要的抑藻菌外,大量噬藻体、藻病毒的发现表明,藻类病毒与“水华”和“赤潮”的关系密切^[21, 22]。

鉴于病毒在海洋环境中数量大(比同等环境条件下细菌总量多一个数量级或更多^[61,62]约 10^8 个/mL),其在海洋微生物同种或不同种之间基因转移中所起的作用,以及很有可能的对海洋生态系统中生物多样性的贡献(赤潮藻种类的增多、赤潮毒素的多样及

相同毒素在不同种类中的不断出现等),把研究的眼光转到病毒这一以前不被重视的微生物类群身上,探讨与其作用相关的赤潮种类、藻毒素、抑藻菌类群的多样性产生,无疑也是一门全新的课题。

(5) 近年来关于自然状态下基因的水平转移和自然转化的研究发现,自然状态下处于感受态的细胞不仅具有摄取 DNA 的能力,而且在此状态下细胞也处于 DNA 分泌的高峰,且分泌的 DNA 具有遗传转化活性^[63-65]。

如果能利用其研究抑藻细菌及赤潮藻毒素的多样性形成,自然状态下水平基因转移在物种的进化中可能起着的重要作用。以及当利用遗传物质进行微生物分类及微生物多样性研究时,由水平基因转移所引起的遗传物质的交换等对分类的影响,都可以作为研究赤潮调控时的一个相关因子进行考虑。

(6) 其它学科的迅猛发展,也使得在海洋微生物多样性,菌藻关系的多样性及相互作用机制的多样性研究得以不断深入和拓展。分子生物学、海洋微生物生态学、生物信息学、环境微生物学、蛋白质组学和生态遗传毒理学等多学科的结合也使赤潮研究和赤潮生消过程中的微生物多样性研究有了众多技术的保障和多方理论的支持,使得这种多样性研究能在赤潮调控中得到有效的利用,并且使其得以蓬勃发展,拥有无比美好的前景。

参考文献:

- [1] 黄邦钦,徐鹏,胡海忠,等. 单种及混合培养条件下 Fe、Mn 对赤潮生物塔玛亚历山大藻生长的影响[J]. 环境科学学报, 2000, 20(5): 537-541.
- [2] 郑天凌,田蕴,苏建强. 海洋赤潮生物与厦门海域几种细菌的生态关系研究[J]. 生态学报, 2002,22(12): 2 063-2 070.
- [3] 孙昌魁,冯静,马桂荣. 海洋微生物多样性的研究进展[J]. 生命科学, 2001, 13(3):97-99.
- [4] 杨永华,姚健. 分子生物学方法在微生物多样性研究中的应用[J]. 生物多样性, 2000, 8(3): 337-342.
- [5] Dykhuizen D E. Santa Rosalia revisited: why are there so many species of bacteria? [J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1998, 73(1):25-33.
- [6] Torsvik V, Goksøyr J, Daae F L. High diversity of DNA of soil bacteria[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1990,56:782-787.
- [7] 李艳华,张利平. 海洋微生物资源的开发与利用[J]. 微生物学通报, 2003,30(3):113-114.

- [8] Doucette G J, Trick C G. Characterization of bacteria associated with different isolates of *Alexandrium tamarense* [A]. Lassus P, Arzul G, Erard E, *et al.* Harmful Marine Algal Blooms[C]. Paris: Lavoisier Science Publ,1995. 33-38.
- [9] Sawayama S, Sako Y. Bacterial inhibitions for the mating reaction of *Alexandrium catenella* (Dinophyceae)[A]. Smayda T L, Shimizu Y. Toxic Phytoplankton blooms in the Sea[C]. BV, Amsterdam: Elsevier Sci Publ, 1993. 177-181.
- [10] Furuki M, Kobayashi M. Interaction between *Chattonella* and bacteria and prevention of this red tide[J]. **EMECS**, 1991, **90** (23): 189-193.
- [11] Fukami K, Nishijima T, Murata H, *et al.* Distribution of bacteria influential on the development and the decay of *Gymnodinium nagasakiense* red tide and their effects on algal growth[J]. **Nippon Suisan Gakkaishi** 1991,57: 2 321-2 326.
- [12] Fukami K, Sakaguchi K, Kanou M, *et al.* Effect of bacterial assemblages on the succession of blooming phytoplankton from *Skeletonema costatum* to *Heterosigma akashiwo*[A]. Yasumoto T, Oshima T, Fukuyo Y. Harmful and Toxic Algal Blooms[C]. Paris: Inter-Governmental Oceanographic Commission of UNESCO, 1996.335-338.
- [13] 郑天凌, 薛雄志, 李福东. 海洋微生物在环境生态中的作用[J]. 海洋科学, 1994,3:35-38.
- [14] 郑天凌, 苏建强. 海洋微生物在赤潮生消过程中的作用[J]. 水生生物学报, 2003, **27**(3):291-295.
- [15] Riquelme C E, Fukami K, Ishida Y. Growth response of bacteria to extracellular products of bloom algae[J]. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 1989, **55**:349-355.
- [16] Silva E S. Marine algae in pharmaceutical science [M].New York: W.Deruyter&Co, 1982. 2: 269-288.
- [17] Kodama M, Ogata T, Sato S. Bacterial production of saxitoxin [J].**Agric Biol Chem**,1988, **52**(4):1 075-1 077.
- [18] Leftley J. Harmful marine algal blooms[J]. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 1996, **2**(202):260-262.
- [19] Caiola M G, Peilegrini S. Lysis of microcystis aeruginosa by Bdellovibrio-like bacteria [J].**J Phcol**,1984,20: 471-475.
- [20] Fukami K. Isolation and properties of a bacterium inhibiting the growth of *Gymnodinium nagasakiense* [J].**Nippon Suisan Gakkaishi**, 1992,**58**(6):1 073-1 077.
- [21] 杨小茹, 郑天凌, 苏建强. 海洋病毒——一种新的、潜力巨大的赤潮防治工具[J]. 2005, **11**(5): 651-656.
- [22] 赵以军, 裴达, 石正丽,等. 藻类病毒研究 40 年[J]. 华中师范大学学报 (自然科学版), 2003,**37**(3):399-404.
- [23] Safferman R S, Morris M E.Algal viruses:isolation[J]. **Science**, 1963, 140:679- 680.
- [24] Safferman R S, Cannon R E, Desjardins P R, *et al.* Classification and nomenclature of viruses of cyanobacteria[J]. **Intervirolgy**, 1983,19:61-66.
- [25] Van Etten J L .Phycodnaviridae[A].Van Regenmortel M N V, Fauquet C M, Bishop D H L, *et al.* Virus taxonomy, classification and nomenclature of viruses, seventh report[C].San Diego: Academic Press, 2000.184-193.
- [26] 洪华生, 徐立. 香港与厦门港湾沉积物研究[M]. 厦门:厦门大学出版社, 1997.165-170.
- [27] 王斐,郑天凌,洪华生. 海洋病毒在微食物环中的重要作用[J]. 海洋科学, 1998,**22**(4):41-43.
- [28] Weissenr W, Schnepf E, Starr R C. Algae, environment and human affairs[M]. Bristol: Biopress Ltd, 1995. 143-158.
- [29] Nagasaki K, Ando M, Imai I. Virus like particles in *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae): a possible red tide distintegration mechanic[J].**Marine Biology**, 1994,119: 307-312.
- [30] Nagasaki K, Yamaguchi M. Isolation of a virus infections to the harmful bloom causing microalga *Heterosigma akashiwo*(Raphido phyceae)[J].**Aquatic Microbial Ecology**,1997, 13:135-140.
- [31] Nagasaki K, Tarutani K, Yamaguchi M. Growth characteristics of *Heterosigma akashiwo* virus and its possible use as a microbiological agent for red tide control[J]. **Appl Environ Microbiol**, 1999, **65**(3): 898-902.
- [32] Bratbak G, Egge J K,Heldal M. Viral morortality of the marine alga *Emiliania huxleyi* (Haptophyceae) and termination of algal blooms[J].**Mar Ecol Prog Ser**, 1993,83:273-280.
- [33] 克钧. 能消灭赤潮藻类的绿藻[J]. 今日科技, 1999,12: 15-16.
- [34] Perez E, Saw yers W G. Lysis of *Gymnodinium breve* by cultures of green alga *Nanochloris eucaryotum*[J].**Cytophos**,2001, **104**(405):25-31.
- [35] Caiola M G, Pellegrini S.Lysis of *Microcystis aeruginosa* by Bdellovibrio-like bacteria[J]. **J Phycol**, 1984, **20**(1):471-475.
- [36] Shilo M. Lysis of Blue-Green algae by Myxobacter [J]. **J Bacteriol**, 1970, **104**(1):453-461.
- [37] Imamura N, I Motoike, N Shimada, *et al.* An efficient screening apprchach for anti-Microcystis compounds based on knowledge of aquatic microbial eccsystem[J]. **J Antibiotics**, 2001, **54**(6):582-587.

- [38] 赵以军,刘永定.有害藻类及其微生物防治的基础——藻菌关系的研究动态 [J].水生生物学报, 1996, 20(2):173-181.
- [39] Lovejoy C, Bowman J P. 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]. **Appl Environ Microbiol**,1998,64(8):2 806-2 813.
- [40] Daft M J, Stewart W D. Ecological studies on algallysising bacteria in fresh waters [J]. **Freshwat Bio**, 1975, 5:577-596.
- [41] Shio M. Lysis of blue-green algae by myxobater[J].**J Bacteriol**,1970, 140: 453-461.
- [42] Sawayama S, Sako Y, Ishida Y. Purification and structure determination of the bacterial mating inhibitor for *Chlamydomonas reinhardtii* and *Alexandrium catenella*[J]. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 1991,57: 307-314.
- [43] Imai I, Sawayama S, Ishida Y. Isolation of a marine gliding bacterium that kills *Chattonella antiqua* (Raphidophyceae) [J]. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 1991,57:1 409.
- [44] Sawayama S, Sako Y, Ishida Y. Bacterial inhibitor for mating reaction in *Chlamydomonas reinhardtii* and *Alexandrium catenella*[J]. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 1990,56:1 847-1 852.
- [45] Dakhama A. Isolation and identification of antialgal substances produced by *Pseudomonas aeruginosa*[J].**J Appl Phycol**,1993, 5:297-306.
- [46] Reim R L. The characterization of a *B.cillus* capable of blue-green bactericidal activity[J].**Can J Microbiol**,1974, 20:981-986.
- [47] Middleboe M, Sondergard M, Letarte Y. Attached and free living bacteria: Production and polymer hydrolysis during diatom bloom[J].**Microbial Ecology**, 1995,29:231-248.
- [48] Dakhama A. Stimulatory and inhibitory effects of *Pseudomonas* on the growth of algae[J].**Can Tech Rep Fish Aquat Sci**,1989,1 714:46-51.
- [49] Imai I, Ishia Y, Sakaguchi K, et al. Algicidal marine bacteria isolated from northern Hiroshima Bay[J].**Japan Fisheries Science**, 1995, 61(4): 628-636.
- [50] Hayashida S. Isolation of anti-algal *Pseudomonas stutzeri* strains and the itlethal activity for *Chattonella antiqua*[J]. **Agric Biol Chem**, 1991, 55(3):787-790.
- [51] 徐金森, 郑天凌, 郭清华, 等. 两种海洋细菌对赤潮藻的细胞生物量的影响研究[J]. 海洋科学, 2002,26(12): 57-60.
- [52] 刁洪成, 江建华. 浅谈赤潮的危害及防治[J]. 山东环境, 1998,5:52-53.
- [53] 郑天凌, 徐金森, 徐美珠, 等. 微生物调控赤潮原因种塔玛亚历山大藻的实验研究[J]. 海洋学报, 2003,10(增刊 2):221-225.
- [54] Shinsaku H. Isolation of anti-algal *Pseudomonas stutzeri* strains and their lethal activity for *Chattonella antiqua*[J]. **Agric Biol Chem**, 1991, 55(3) :787-790.
- [55] 苏建强, 郑天凌, 俞志明, 等. 海洋细菌对赤潮藻生长及其产毒量的影响[J].海洋与湖沼, 2003, 34(1):44-49.
- [56] 李福东, 张诚, 邹景忠. 细菌在浮游植物生长过程中的作用[J]. 海洋科学, 1996,20(6):30-33.
- [57] 连玉武, 王艳丽, 郑天凌, 等. 赤潮科学中藻菌关系研究的若干进展[J]. 海洋科学, 1999,23(1):35-38.
- [58] 苏建强, 郑天凌, 胡忠, 等. 不同 pH 和盐度下海洋细菌对赤潮藻生长和产毒的影响[J]. 应用生态学报, 2003,14(7):1 161-1 164.
- [59] 俞建奎, 李瑞香. 渤海和黄海浮游植物形态学上的研究[J].黄渤海海洋,1993,3:52-59.
- [60] 张汉光, 赤潮现象[J]. 生物学通报,1999,34(3):8-9.
- [61] Wolf A, Zheng Tian-ling, Witzel K P, et al. Impact of initial phage/host ratio and nutrient addition on coexistence in a phage-host system[J]. **Aquatic Microbial Ecology**, 2004, 35: 131-139.
- [62] Bergh Q K Y, Borsheim G B, Haldal M. High abundance of viruses found in aquatic environment[J]. **Nature**, 1989, 340: 467-468.
- [63] 谢志雄, 陈向东, 陈琪, 等. 细菌感受态细胞摄取和分泌 DNA 的相关性研究[J]. 遗传, 1999, 21(1):23-25.
- [64] 陈向东, 陈琪, 谢志雄, 等. 枯草芽孢杆菌在琼脂平板上进行的自然遗传转化[J]. 微生物学报, 2000,40(1): 95-99.
- [65] 许传东, 沈萍. 大肠杆菌核酸分泌及其转化活性的研究[J]. 武汉大学学报 (自然科学版), 1996, 生物工程专刊: 77-80.

(本文编辑:张培新)