

共附生菌对绿潮浒苔作用的研究进展及应用

毕芳玲¹ 赵爽^{1, 2} 栗斌¹ 李爱芹¹ 张建恒^{1, 3, 4} 何培民^{1, 3, 4}

(1. 上海海洋大学海洋生态与环境学院, 上海 201306; 2. 福建技术师范学院海洋学院, 福建 350300; 3. 上海海洋大学水产遗传资源开发利用教育部重点实验室, 上海 201306; 4. 水域环境生态上海高校工程研究中心, 上海 201306)

摘要: 绿潮的迁移与大规模暴发, 除了与藻体自身较强抗胁迫能力等生物学特性和海域环境条件有关外, 也离不开藻际微生物的参与。微生物群落对藻类的生长、消亡等过程具有重要作用。不同环境条件下, 浒苔共附生菌群落结构多样, 对藻类的促进作用主要体现在藻体形态建成、生长、营养吸收以及光合作用等过程。在藻华发生过程中, 能够帮助藻体高效吸收营养物质, 促进藻类增殖, 加剧绿潮的形成。因此, 本文基于前人的研究成果, 总结当前绿潮优势种浒苔共附生菌的研究现状, 阐述浒苔共附生菌分离技术的建立过程, 指出高通量测序等分子生物学技术对微生物群落结构与多样性分析的重要性, 分析共附生菌对浒苔生长、繁殖、形态建成等生理特征和绿潮暴发的影响, 探寻共附生菌在今后生产、生活中的应用价值, 旨在为预测、防控绿潮暴发以及资源化利用开辟新思路。

关键词: 绿潮; 浒苔; 共附生菌; 多样性; 形态建成; 生长发育; 繁殖; 抗胁迫

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2023-0652

Research Progresses and Application in the Growth-promoting Effect of Symbiotic and Epiphytic Bacteria on Green Tide-causing *Ulva prolifera*

BI Fang-ling¹ ZHAO Shuang^{1, 2} LI Bin¹ LI Ai-qin¹ ZHANG Jian-heng^{1, 3, 4} HE Pei-min^{1, 3, 4}

(1. College of Marine Ecology and Environment, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; 2. Ocean College, Fujian Polytechnic Normal University, Fujian 350300; 3. Key Laboratory of Fishery Genetic Resources Development and Utilization, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; 4. Water Environment and Ecology Engineering Center of Higher Education, Shanghai 201306)

Abstract: The migration and large-scale outbreak of green tides are not only related to the biological characteristics such as the strong stress resistance of algae and the environmental conditions of the sea area, but also inseparable from the participation of algal microorganisms. The microbial community plays an important role in algal growth and extinction. Under different environmental conditions, the community structure of symbiotic and epiphytic microorganisms of *Ulva prolifera* are diverse. The promotion to algae growth is mainly reflected in the processes of algae morphogenesis, growth, nutrient absorption and photosynthesis. During the occurrence of algal blooms, *U. prolifera* could help the algae to efficiently absorb nutrients, promote algae proliferation, and thus increase the formation of green tides. Based on previous researching results, we summarized the current research status of symbiotic and epiphytic bacteria of *U. prolifera*, the dominant species of green tide, described the establishment process of the separation technology of symbiotic and epiphytic bacteria of *U. prolifera*, and pointed out the importance of molecular biology techniques such as high-throughput sequencing in the analysis of microbial community structure and diversity, analyzed the influence of these bacteria on the physiological characteristics of the growth, reproduction, morphogenesis of *U. prolifera* and the

收稿日期: 2023-07-10

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFC3106004, 2022YFC3106001), 上海市自然科学基金项目(21ZR1427400), 自然资源部海洋生态监测与修复技术重点实验室开放课题(202008), 国家自然科学基金项目(41576163)

作者简介: 毕芳玲, 女, 硕士研究生, 研究方向: 藻类分子生物学; E-mail: 2403636092@qq.com

通讯作者: 何培民, 男, 博士, 教授, 研究方向: 海藻生物技术和分子生物学; E-mail: pmhe@shou.edu.cn

outbreak of the green tides, and explored the utilization value of symbiotic and epiphytic bacteria in future production and life, aiming to express new ideas for predicting and preventing and controlling the outbreak of green tides and for the algal utilization as a resource.

Key words: green tide; *Ulva prolifera*; symbiotic and epiphytic bacterium; diversity; morphology; growth and development; propagation; stress resistance

大型海藻作为一种重要的海洋生物资源,能够为海洋附生生物提供必要的生存条件^[1],在维持海洋生物多样性方面具有不可替代的作用^[2]。然而,某些大型海藻在特殊环境条件下的爆发性增殖会形成有害藻华(harmful algal blooms, HAB)。近年来,由于气候变暖和水体富营养化程度的加重,绿潮等 HAB 在全球范围内频繁发生^[3],且发生频率、灾害程度和影响范围均呈上升趋势^[4-6]。自 2007 年以来,我国黄海连续暴发浒苔绿潮,绿潮的最大覆盖面积约为 1 764 km²^[7],最大分布面积约为 60 594 km²^[8],其中,最大分布面积约占黄海面积的八分之一^[9]。绿潮连年暴发不仅影响海洋生态系统的稳定性,而且还给我国江苏和山东沿海造成了较大的经济损失^[10-11]。

浒苔(*Ulva prolifera*)隶属于石莼属(*Ulva*)、石莼科(Ulvaceae)、石莼目(Ulvales)、绿藻纲(Chlorophyceae)、绿藻门(Chlorophyta)^[12],为广温性和广盐性大型绿藻,具有繁殖快、生长快和环境适应性强等特点^[13],广泛分布于潮间带和入海河口混合水域^[14],具有有性繁殖、无性繁殖、单性繁殖和营养繁殖等多种繁殖方式^[15],且微观繁殖体具有较强的抗逆性^[16]。特别是气囊状藻体,经自然、人为等外力使其脱落入海后,易漂浮在水面,在适宜的水温和富营养化环境条件下迅速增殖,从而引发绿潮^[17]。HAB 的研究主要集中在藻体自身特征分析、形成机制、影响因素和致因藻种溯源等方面。然而,近年来的研究表明,有许多细菌群落参与海洋藻类的生长和消亡等过程,一些附生菌可以分泌促生长物质^[18]、参与氮代谢和藻体营养物质的吸收与利用过程^[19],从而促进藻类增殖,成为某种藻类暴发的关键诱因之一^[20]。藻类(尤其大型海藻)与共附生菌之间存在复杂的互作关系,附生菌可以促进或抑制藻类生长。因此,藻-菌共生关系日益引起科学家和学者的关注。

海洋细菌与藻类之间存在复杂而密切的关系。

不同藻类具有特殊的“藻际”(phycosphere)微环境^[21]。一些细菌长期生活在植物组织中,与宿主协同进化,它们被称为内生菌(endophyte)^[22];另一些细菌附着于藻体表面,并与藻类保持动态的互作关系,被称为藻体的外生菌(epiphyte)^[23]。藻类与共附生菌之间存在密切的互利共生关系,藻类为细菌提供栖息地、氧气、多糖和其他碳水化合物;同时,共附生菌为藻类提供激素、二氧化碳等,甚至在藻体形态建成、防御免疫、孢子释放和萌发等过程中发挥关键作用^[24-25]。因此,有研究指出共附生菌在浒苔绿潮暴发的过程中起着重要的促进作用^[20]。浒苔藻体内外均具有丰富的微生物群落,这些微生物在浒苔形态建成和生长过程中发挥着重要作用^[26]。

本文针对绿潮优势种浒苔的共附生菌,从藻际微生物对浒苔的生理生态适应性的影响出发,阐述了其对浒苔的形态、生理以及绿潮暴发的影响和主要研究进展,旨在为黄海浒苔绿潮暴发机制的解析和防控策略的制定提供新思路。

1 浒苔共附生菌分离技术与多样性分析

大型海藻中含有丰富的共附生菌群落,分离、获得纯培养微生物和研究海藻共附生菌群落结构的多样性是了解藻类与共附生菌互作关系的前提。目前关于浒苔共附生菌的室内研究主要集中在利用培养基进行分离培养和研究菌株对藻的作用机理等方面,室外研究主要针对海区绿潮暴发期间的藻体与水域环境微生物多样性进行分析^[20]。随着分子生物学技术的发展,藻类微生物的分离纯化和多组学测序等研究方法不断进步,不断加深对藻类微生物的认识。

1.1 共附生菌分离技术建立

纯培养物是研究微生物功能和机制的宝贵资源。早在 1880 年,Robert Koch 首次采用平板法获得单个菌落的炭疽菌(*Bacillus anthraci*),为细菌分类的初步研究奠定了基础^[27]。随着藻类微生物学的发展,Selman Abraham Waksman 于 1934 年从藻体中分

离出纯培养细菌^[28]。长期以来,纯培养菌株的获得主要来源于平板分离法的不断改进^[29]。在纯培养微生物分离法建立的初期,菌株分离技术主要是简单的培养基培养法,包括玻璃珠振荡稀释平板涂布法和富集培养平板涂布法^[30]。随着分离培养技术的提高,进入21世纪,纯培养微生物的分离获取方法已经演变为机械研磨法^[31],采用不同介质研磨藻体,将混合菌液涂布固体培养基(如LB、2216E、R2A、CYTOPHAGA等),并连续分离,得到纯培养菌株。目前,浒苔等大型海藻共附生菌的分离方法主要是研磨平板涂布法,即,在无菌条件下,用无菌海水反复漂洗藻体,在冷冻离心机中加入2-3颗金属研磨珠进行研磨处理,然后,再离心从上清液中获得菌液,涂布于2216E等固体培养基上进行单一菌株的分离^[32]。截至目前,对藻类微生物的研究集中在藻际微环境中共附生菌的统一分离和分析。

共附生菌分为内生菌和外生菌。其中,内生菌的概念最早由Henrich Anton de Bary提出,是指区别于附着在植物表面的外生菌,定殖在健康植物组织内部,并与宿主共生的微生物群落^[33]。由于许多学者对这一概念有不同的看法,因此,植物内生菌尚无统一的定义。本文提出的浒苔等大型绿藻内生菌是指寄生于藻细胞内部的细菌群落。对内生菌的研究需要在彻底去除藻体表面附生细菌的基础上才能实现,主要手段包括蜗牛酶(Snailase)、木瓜蛋白酶(Papain)等酶处理方法^[34],无水乙醇和UNSET缓冲液等化学方法^[35],以及机械研磨法^[36]。虽然,已有报道的这些方法能在一定程度上去除藻体外生菌,但研究发现处理后的藻体存在部分细菌残留和藻细胞被破坏等现象。Liu等^[37]比较了体外去除藻体外生菌的各种方法,提出了在保持内生菌的同时最大限度地去除外生菌的最优方案:取0.03 g藻体,使用无菌海水多次漂洗,然后加入0.3 g无菌硅砂(125-250 μm),在3 200 r/min下涡旋处理30 min。这种硅砂涡旋法需要进一步改进和优化,目前仍然缺乏有效的实验技术,可以将藻体内、外生菌群落完全分离。

1.2 共附生菌群落结构与多样性分析

在大型海藻可培养微生物群落结构研究中,一

般采用16S rDNA通用引物对分离获得的单菌株进行PCR扩增和测序分析,16S rDNA序列因其既有保守区又有可变区,并且变异频率缓慢而被广泛应用。Singh等^[23]和Alvarado等^[38]通过PCR扩增与16S rDNA测序分析发现,石莼等大型海藻的共附生菌主要为变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和放线菌门(Actinobacteriota)。Grueneberg等^[39]从大型海藻硬石莼(*U. rigida*)的表面分离出50株变形菌门细菌、5株拟杆菌门(Bacteroidetes)细菌和1株厚壁菌门细菌。此外,刘杰等^[5]从2008年青岛沿岸暴发的绿潮浒苔共附生菌中分离鉴定出18株细菌,分属于厚壁菌门、变形菌门、拟杆菌门和放线菌门。其中,变形菌门中的 α -变形菌纲和 γ -变形菌纲的菌株最为丰富。同样,金柘^[32]也分离出了16个属的浒苔共附生菌,并发现变形菌门的玫瑰杆菌科(Rhodobacteraceae)细菌占绝大多数。

除了研究海藻中可培养细菌的种类外,还可以通过提取海藻相关共附生菌来研究藻类或海洋细菌在特定条件下的生理生化特性。其中,高通量技术被广泛应用于浒苔等藻类共附生菌群落结构和功能的分析。Zhao等^[40]利用高通量测序技术,研究了青岛近岸海域绿潮暴发过程中海洋细菌和古生菌群落的变化。研究发现,在绿潮暴发和消亡过程中,黄杆菌目(Flavobacteriales)、红杆菌目(Rhodobacterales)和海洋古菌(marine group II, MGII)菌群占优势。武洪庆等^[31]对采自浙江舟山和象山的浒苔共附生菌群落结构进行研究发现,只有假单胞菌(*Pseudomonas*)是两地样品共有的菌属。苏秀榕等^[41]研究在浙江象山和朱家尖地采集的13种海藻共附生菌时也发现了微生物群落结构的多样性。大多数证据表明,在温度、潮间带等不同环境条件下,海藻的微生物群落结构具有多样性和特殊性^[42]。因此,从浒苔等藻类共附生菌的优势菌群变化和群落结构差异的角度,有望实现对海洋酸化和生态环境问题的动态监测。

大型海藻表面附生菌的群落结构在物种水平上表现出明显的特异性^[43]。99%以上的海洋细菌无法培养和鉴定^[44],但随着不依赖于分离培养的宏基因组DNA序列分析技术的发展,许多“未培养”的微生物物种信息被揭示出来^[45]。Tyson等^[46]利

用酸性矿山排水生物膜的宏基因组数据，通过改良培养基提高微生物的可培养性，成功分离出一株参与固氮的钩端螺旋菌（*Leptospirillum*）。Li 等^[47]将培养组学和宏基因组学结合，扩展了高质量宏基因组组装基因组（high-quality metagenome-assembled genomes, hqMAGs），为全面了解沙漠单个微生物基因组系和功能奠定了基础。这种基于培养组学的宏基因组学（culturomics-based metagenomics, CBM），为进一步挖掘和探究未知微生物群落样本提供了新的视角。此外，微生物群落结构的研究还涉及克隆文库、DNA 指纹图谱、荧光原位杂交等分子生物学技术。目前，对浒苔共附生菌的宏基因组研究主要集中在绿潮暴发期间调查该海域浒苔共附生菌的群落变化，而 CBM 的应用以及结合代谢网络和多组学分析对菌株作用机制的研究还比较少。

2 共附生菌对绿潮浒苔的作用

绿潮迁移会对相关藻类的生物量和覆盖度产生显著影响，进而导致其光合色素含量、气囊结构和分枝结构等生理生态特征发生改变^[48]。由于某些细菌可以为藻类提供矿质元素^[49]，释放促进藻类生长和形态建成的因子^[50]，藻类学家普遍认为绿潮的迁移和暴发与细菌群落结构的变化密切相关^[20]。目前的研究结果证实，浒苔共附生菌不仅可以参与藻类的生理活动，还可以在在一定程度上促进绿潮的暴发。

2.1 共附生菌对浒苔形态建成的影响

共附生菌对浒苔等大型绿藻的形态建成具有积极作用^[51]。一些大型藻类在缺少天然藻际微生物

的情况下，并没有发育成正常形态。Provasoli 和 Pintner^[52]研究发现，在无菌培养条件下浒苔属幼苗生长异常，发育成细长的管状藻。石莼目的尖种礁膜（*Monostroma oxyspermum*）在自然环境条件下呈叶状，而在无菌条件下，其形态变为松散的细胞团^[53]。这一现象表明，石莼等大型海藻独特的形态结构与海洋细菌的定殖密切相关。目前，关于大型海藻共附生菌对藻类形态影响的研究主要分为两个方面。

2.1.1 无菌浒苔的培养 由于藻类对抗生素敏感^[54]，大多数的无菌石莼是通过抗生素共培养获得的（表 1）。在无菌浒苔的培养中，Chen 等^[55]利用含有 0.1 g/L 青霉素 G、0.1 g/L 硫酸新霉素和 0.03 g/L 多黏菌素 B 的混合抗生素培养液获得了无菌浒苔；王瑜^[56]、金柘^[32]等联用含有青霉素 G、氯霉素、诺氟沙星、链霉素和卡那霉素的培养液对浒苔孢子进行培养，成功构建了浒苔的愈伤组织。Spoerner 等^[60]在易变石莼（*U. mutabilis*）生殖细胞的无菌培养中也发现了这种类型愈伤组织表型。该类愈伤组织是由细胞壁异常和未分化细胞组成的细胞团^[26,61]。无菌培养方法的发展和完善无疑为进一步研究共附生菌对藻体形态建成和生长发育的影响奠定了重要基础。

2.1.2 纯培养菌株对无菌藻体形态的影响 健康浒苔形态发育的定性特征是藻体长度正常、无细胞壁突起和有分化的假根^[60]。有研究发现，在去除一些特殊细菌的情况下，浒苔会发育成类愈伤组织形

表 1 不同石莼属绿藻的无菌培养方法

Table 1 Different aseptic culture methods of <i>Ulva</i> sp. green algae		
物种 Species	抗生素配方 Antibiotic formulations	参考文献 Reference
石莼 <i>U. lactuca</i>	青霉素 G、氯霉素、新霉素、硫酸多黏菌素 B Penicillin G, chloramphenicol, neomycin, and polymyxin B sulfate	[52]
浒苔 <i>U. prolifera</i>	青霉素 G、硫酸新霉素、多黏菌素 B Penicillin G, neomycin sulfate, and polymyxin B 青霉素 G、氯霉素、诺氟沙星、链霉素、卡那霉素 Penicillin G, chloramphenicol, norfloxacin, streptomycin, and kanamycin	[32,55-56]
孔石莼 <i>U. pertusa</i>	青霉素 G、链霉素、红霉素、卡那霉素 Penicillin G, streptomycin, erythromycin, and kanamycin	[57]
缘管浒苔 <i>U. linza</i>	青霉素 G、链霉素、诺氟沙星、卡那霉素 Penicillin G, streptomycin, norfloxacin, and kanamycin	[58]
缘管浒苔 <i>Enteromorpha linza</i>	青霉素、链霉素 Penicillin and streptomycin	[59]

态(图1),但随着必要共附生菌的加入,其整个形态可以恢复正常^[62],这种现象也存在于几种大型海藻中,如缘管浒苔和扁浒苔(*U. compressa*)^[58, 63]。大量与宿主形态发育有关的共附生菌附着在石莼科海藻表面^[64]。Matsuo等^[57]研究发现,由噬纤维菌属(*Cytophaga*)、黄杆菌属(*Flavobacter*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)细菌组成的CFB细菌复合体,是参与石莼属绿藻形态建成的重要功能类群。此外,有研究表明,达到一定数量级(10^8 – 10^9 个/mL)的玫瑰杆菌科、黄杆菌科、芽孢杆菌科细菌在诱导浒苔愈伤组织形态建成中发挥关键作用^[32]。对其他石莼属藻类共附生菌研究,成功建立了*U. mutabilis*的三方共生关系,筛选出的菌株玫瑰杆菌(*Roseobacter* sp. MS2)和噬纤维菌(*Cytophaga* sp. MS6)可以协同促进藻体形态的恢复^[60]。细菌衍生质可以控制藻类的假根、细胞壁和叶状体的发育^[57]。迄今为止,由海杆菌(*Maribacter* spp.)释放的细菌半萜烯类化合物Thallusin是唯一已知并分离出的形态发育促进因子^[65]。

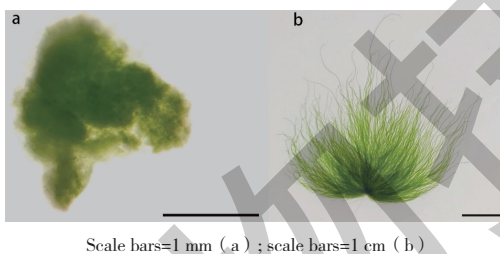


图1 无菌浒苔(a)和正常浒苔形态(b)

Fig. 1 Morphology of sterile *U. prolifera* (a) and normal *U. prolifera* (b)

由于藻际微生物的特异性,刘晓杰等^[63]推测,漂浮浒苔可能具有特殊的共附生菌群落结构和与形态建成相关的CFB菌群,使浒苔形成适应漂浮生活的藻体形态,从而拥有更快的生长发育速率。这可能是黄海绿潮(yellow sea green tide, YSGT)漂浮浒苔形成的原因之一^[66]。可见,深入研究浒苔共附生菌的特性和作用机制,对于黄海绿潮的遗传溯源和暴发机制研究具有重要意义。

2.2 共附生菌对浒苔生长的影响

藻际微生物具有多样的代谢类型,积极参与

藻类的正常生长发育。研究证实,细菌可以为藻类提供无机氮、铁、无机磷等无机营养物质,并产生维生素、细胞分裂素和生长素等植物激素^[67–68],从而促进植物生长。Grueneberg等^[39]发现副球菌(*Paracoccus* sp.)和溶解噬纤维菌(*Cellulophaga lytica*)可以单独诱导石莼属海藻愈伤组织的细胞分裂。王瑜^[56]筛选出4株菌,E68(*Roseobacter* sp. SYOP1)、E69隐藻海生菌(*Marivita cryptomonadis*)、E104芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)和E110(*Maribacter aestuarii*),可显著提高浒苔愈伤组织的相对增长率,在藻类的转录组学分析中发现,诱导组中存在许多与生长发育相关基因的富集,如硝酸盐转运蛋白和丙酮酸激酶等。E110组也存在特有的差异基因显著富集,如光合膜(photosynthetic membrane)条目的KHCA5等光系统I/II反应中心亚基基因和叶绿素a/b结合蛋白基因。这些基因表达蛋白可以捕获到光系统的激发能,增强藻类的光合能力^[69],使浒苔在绿潮暴发过程中更具竞争力。

此外,有研究发现,由于浒苔绿潮暴发后期藻体生物量增加,导致海区营养盐匮乏^[70],共附生菌可通过生物固氮作用补充藻类生长的氮源,使浒苔在寡营养环境中仍保持生长^[71]和优势地位,导致绿潮持续时间延长^[72]。这与梅香远^[73]提出的“共附生菌可能有助于漂浮浒苔在不同营养环境中的氮转运”的猜想一致。这一发现表明,浒苔共附生菌能够促进绿潮的大规模暴发,也进一步证实了当前水体富营养化等环境因素是浒苔绿潮暴发的重要原因。

共附生菌的促生作用在其他植物上也有报道。邹迪^[74]研究发现,附生假单胞菌可以促进铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)的生长,将不易被微囊藻直接吸收的磷形态转化为磷酸盐等物质供铜绿微囊藻利用。坛紫菜(*Pyropia haitanensis*)在不同生长发育阶段的微生物群落结构会发生显著变化,与无孢子囊阶段相比,孢子囊阶段的培养基中检测到丰富的厚壁菌门细菌^[75]。芽孢杆菌具有产芽孢、快速繁殖、高耐受性等特点,它能产生吡啶-3-乙酸刺激植物幼苗伸长生长^[76],分泌或诱导生长激素、酶、抗菌蛋白等^[77],增强植物生长和光合作用、改善水体微生态环境^[78]。假单胞菌门(*Pseudomon-*

adota) 的根瘤科 (Rhizobiaceae) 微生物对微藻和植物具有促进生长和益生的特性^[79]。一些细菌可以产生特定的胞内磷脂或胞外糖肽等有机物质,如黏红酵母 (*Rhodotorula glutinis*) 可释放有机酸,促进微藻生长^[80]。

海藻共附生菌对藻类生长的作用表现在促进和抑制两个方面,这种作用会因不同的环境或藻类的不同生长阶段而发生改变^[23]。细菌对藻类的抑制作用表现在以下3个方面:(1)分泌对藻类有抑制作用的生物碱^[81]、抗生素^[82]、灵菌红素($C_{20}H_{25}N_{30}$)^[83]等胞外活性物质,抑制叶绿素a等光合色素的合成或一系列光合作用相关基因的表达,破坏藻细胞的抗氧化系统和细胞结构等^[84];(2)与藻类竞争营养物质,如不动杆菌 (*Acinetobacter* sp.) 具有很强的脱氮除磷能力^[85],能够引起水体中无机营养盐的缺乏;(3)生物菌膜的形成抑制了藻类的光合作用。有些细菌甚至具有溶藻作用,如嗜纤维菌,可以在一定程度上杀灭硅藻 (diatom) 和半沟藻 (*Raphidophyte*) 的藻细胞^[86]。此外,芽孢杆菌、链霉菌 (*Streptomyces* spp.) 和假单胞菌是当前报道数量最多的溶藻细菌,具有广谱溶藻能力^[87]。目前,浒苔的溶藻细菌种类鲜有报道,因此探寻浒苔潜在溶藻细菌种类,可能是绿潮防控的新方向。

2.3 共附生菌对浒苔繁殖的影响

浒苔共附生菌除了影响藻体的生长和形态建成外,还影响游动孢子的定殖。浒苔的游动孢子可能能够响应细菌的化学信号,增强浒苔孢子沉降能力。Joint等^[88]发现附着基上微生物的数量与浒苔游孢子附着的数量呈正相关。Patel等^[89]研究了游动孢子的定殖与微生物膜中特定细菌的相关性,结果表明,从浒苔表面和附近岩石生物膜中分离的37种细菌对浒苔游孢子的定殖具有特异性,大多数弧菌属 (*Vibrio*) 和希瓦氏菌属 (*Shewanella*) 细菌能够促进浒苔游孢子的定殖,而假交替单胞菌属 (*Pseudoalteromonas*) 细菌则具有抑制作用。此外,李孟珂等^[90]也证实了铜绿微囊藻的共附生菌鞘氨醇单胞菌 (*Sphingopyxis solisilvae*) L-9-3 对藻细胞具有显著的增殖作用。

共附生菌对藻类繁殖具有有益作用,已有研究

表明藻类附生菌可以促进孢子的定殖,但其能否促进藻体的放散还有待进一步研究。由于漂浮浒苔具有营养生殖、无性生殖、有性生殖等多样的繁殖方式^[15],其孢子萌发形成的藻体生长快、光合能力强,而营养繁殖形成的藻体对光照强度的适应性更强^[91]。在适宜环境的条件下,浒苔释放出的大量孢子和配子一旦萌发,将导致浒苔生物量的迅速增殖^[92],这一过程可能存在众多共附生菌参与。因此,共附生菌对浒苔迅速增殖的作用机理有待深入研究,这一研究有望为绿潮监测提供新思路。

2.4 共附生菌对浒苔抗逆能力的影响

在潮间带,浒苔的不同生长阶段不可避免地遭受水分流失、高温和辐射等不良环境因素的影响。在此期间,浒苔的共附生菌很可能在提高藻类的抗逆性方面起到积极作用。周新倩等^[93]对浙江近岸海域浒苔外生菌的 Shannon-Wiener 多样性指数进行分析发现,随着水温的升高,浒苔外生菌和水体微生物的多样性指数均逐渐升高,细菌群落结构多样性不同的微生物主要为不动杆菌 (*acinetobacter* sp.)、假单胞菌、弧菌、假交替单胞菌和舍氏小螺菌 (*Mucispirillum schaedleri*)。杨华田等^[94]在研究芽孢杆菌对高温下坛紫菜生长和生理的影响时发现,在高温胁迫下,藻菌共培养组的相对生长率 (RGR)、抗氧化酶活性和丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平显著高于对照组。高温胁迫可以增强藻类的氧化应激反应,抗氧化酶和热休克蛋白 (heat shock protein, HSP) 是藻类抵御逆境胁迫的重要蛋白^[95],当藻类受到高温胁迫时, HSP 会维持蛋白质的功能结构,参与变性蛋白质的复性和降解^[96]。

目前,对盐胁迫响应机制的认识主要集中在膜的离子转运、抗渗透物质的积累、抗氧化功能的提高等方面^[97]。黄杆菌 (*Jatrophihabitans*)、微杆菌 (*Microbacterium*)、假单胞菌和红球菌 (*Rhodococcus*) 等能够增强莱茵衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) 的耐盐性^[98]。周璇^[99]初步探索了高盐胁迫下细菌调控微藻耐盐性的分子机制发现,在高盐胁迫下,与单独培养的衣藻耐盐基因表达量相比,藻菌共培养组的光系统 II 捕光复合体 (LHC II) 基因 *Plhc* 表达量增加,与细菌互作后,实验组的衣藻活细胞数、

叶绿素含量和光系统 II 最大光化学效率提高,说明菌株的加入缓解了高盐条件下光合作用的抑制。

在非生物胁迫下,浒苔会产生包括脯氨酸 (poline)、甜菜碱 (betaine)、可溶性多糖 (soluble polysaccharide)、多元醇 (polyalcohol) 等在内的代谢产物来调节藻类细胞渗透压^[100];同时,LEA 蛋白、H⁺-ATPase 和水通道蛋白 (aquaporin) 等会通过逆向转运来抵抗逆境胁迫^[96]。由于浒苔外生菌在不同环境中的特异性和多样性,多组学分析可以揭示藻类和细菌在不同环境胁迫下的调控机制。因此,从分子角度研究共附生菌如何协助藻类应对环境胁迫具有重要意义。目前国内外关于浒苔与共附生菌共培养的研究较少,尤其是从分子生物学角度进行的研究更少。未来,在研究浒苔抗逆性的转录组分析时,可以重点分析脯氨酸、HSP、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶 (peroxidase, POD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、抗坏血酸 (ascorbic acid)、丙二醛、谷氧还蛋白 (glutaredoxin)、Raf 类蛋白激酶 (Raf-like protein kinases, RAFs)、渗透压调节蛋白和抗氧化系统与非生物胁迫表达相关的基因等方面。

3 浒苔重要共附生菌的应用价值

浒苔资源丰富,是一种非常经济的海洋生物资源。随着对浒苔共附生菌多样性研究的深入,发挥重要作用的功能菌株逐渐成为研究热点。从共附生菌的研究中可以实现浒苔藻体的有效降解与利用,既可以缓解海洋生态环境压力,维持海洋渔业和旅游业正常发展,也可以作为可再生资源应用于农业、畜牧业和能源工业,具有广阔的利用价值和应用前景。

朱镕杰^[101]利用转基因克隆技术,从浒苔共附生菌-假交替单胞菌中,获得了国内外可用于植物抗寒基因工程的抗寒基因。据报道,假交替单胞菌还能分泌淀粉酶等多种水解酶,能有效降解浒苔的大分子多糖和细胞壁,甚至在 3 d 内降解率可达 68.10%^[102]。此研究为浒苔的高效环保降解提供了新的思路,但其内在机理和相关技术仍需进一步探究。目前,已挖掘的浒苔纤维素降解酶可作为新型藻类开发的工具酶,通过对浒苔纤维素的高效降解,

可以实现对浒苔生物质能源的资源化开发利用。

海洋大型绿藻具有丰富的营养价值,是硫酸多糖的主要来源,其中石莼胶 (ulvan) 是绿藻中一种重要的水溶性硫酸多糖,包含鼠李糖、葡萄糖醛酸和艾杜糖醛酸等^[103],具有生物降解性、靶向性、抗炎、增强免疫和抗凝血等多种有益的生理活性^[104],具有较大的药物开发潜力。顾铁基^[105]从浒苔外生菌太平洋海胆杆菌 (*Echinicola pacifica*) HT-3 的基因组数据中发现,了 PL37 家族的多糖特异性裂解酶 (HT-34) 基因,为进一步研究 PL37 家族浒苔多糖裂解酶的蛋白结构、催化机制及应用奠定了基础。陈冉^[36]和耿玉慧^[106]也从浒苔中筛出能分泌浒苔多糖降解酶的菌株,并获得了一种可高效降解浒苔多糖的酶 (U-3282),该酶对浒苔多糖的酶比活力可达 10 000 U/mg 以上,显著高于之前报道的 19.32 和 22.86 U/mg^[107]。此外,有学者通过超滤、硫酸铵沉淀、离子交换色谱法和分子筛高压液相色谱等方法,从浒苔中筛选出具有抗肿瘤活性的菌株 Y15-8 和 HT15-8^[108]。此研究具有广阔的应用前景,为抗肿瘤药物先导化合物的研究提供了重要的理论依据。

4 总结与展望

近年来,黄海绿潮等有害藻华频繁发生,对我国乃至全球沿海城市造成了巨大的影响。绿潮的迁移与暴发,除了与藻体自身独特的生物学特性和适宜的海域环境有关外,也和藻际微生物的参与密不可分。目前,关于有害藻华的研究报道,主要包括藻化的形成机制、影响因素、致因藻种溯源和生物学特性分析等方面。藻华的发生和海藻共附生菌密切相关,附生菌分泌的促生长物质,参与了藻类的氮代谢和营养物质的吸收与利用过程,加速了藻类的增殖。此外,藻际微生物也参与了藻类的生长和消亡等过程。因此,藻华是多种因素共同作用的结果。

浒苔共附生菌具有丰富的多样性,它们的纯培养是研究菌株功能和开发利用的前提,分离技术的建立和改进是关键。目前,16S rDNA 和高通量测序技术被广泛用于浒苔等大型海藻微生物群落结构和多样性研究。随着现代科学技术的发展,多种技术的综合运用,将为浒苔共附生菌的分离培养和功能分析提供新思路。浒苔共附生菌主要对藻体的形态

发生、繁殖和抗逆性等生长过程发挥作用。此外，浒苔共附生菌具有重要的潜在应用价值，从浒苔共附生菌—假交替单胞菌中分离出抗冻基因、多糖和纤维素水解酶，以及筛选出的具有抗肿瘤活性的菌株，均具有可观的开发应用前景。

总之，目前对浒苔共附生菌的研究还处于探索阶段。未来，为了进一步研究浒苔共附生菌群落结构的多样性，需要不断改进分离纯化技术以获得更多的纯培养功能菌株。同时需要开发有效的内、外生菌分离技术，以便更精确地研究共附生菌与浒苔的互利共生关系。今后，不仅要研究单一共附生菌对藻类生长和形态的影响，而且还要研究混合菌株和不同细菌群落对浒苔生物学特性的影响，并剖析其中的分子机制。基于这些研究成果进一步开发出功能菌株或菌群，将其应用于经济海藻养殖等领域，助力生态、绿色和高产的经济海藻养殖业发展。此外，从微生物视角对藻华进行研究，不仅有利于实现对绿潮的精准预测和防控，也有利于浒苔的资源化利用。

参考文献

- [1] Frascchetti S, Terlizzi A, Bevilacqua S, et al. The distribution of hydroids (Cnidaria, Hydrozoa) from micro- to macro-scale: spatial patterns on habitat-forming algae [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 2006, 339 (2): 148-158.
- [2] Schiel DR, Lilley SA. Gradients of disturbance to an algal canopy and the modification of an intertidal community [J]. Mar Ecol Prog Ser, 2007, 339: 1-11.
- [3] Zeng J, Yin BL, Wang YT, et al. Significantly decreasing harmful algal blooms in China Seas in the early 21st century [J]. Mar Pollut Bull, 2019, 139: 270-274.
- [4] 林森杰, 姬南京, 罗昊. 海洋有害藻华研究进展 [J]. 海洋与湖沼, 2019, 50 (3): 495-510.
Lin SJ, Ji NJ, Luo H. Recent progress in marine harmful algal bloom research [J]. Oceanol Limnol Sin, 2019, 50 (3): 495-510.
- [5] 刘杰, 王晓姗, 王能飞, 等. 青岛近海浒苔粘附着细菌 16S rDNA 系统发育学研究 [J]. 科学技术与工程, 2009, 9 (8): 2042-2046, 2055.
Liu J, Wang XS, Wang NF, et al. 16S rDNA phylogeny of adherent bacteria isolated from the surfaces of *Enteromorpha prolifera* in Qingdao Sea [J]. Sci Technol Eng, 2009, 9 (8): 2042-2046, 2055.
- [6] 施锦婷. 黄海绿潮浒苔种源的初步分析 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2019.
Shi JT. Preliminary analysis of *Ulva prolifera* provenances in the Yellow Sea, China [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2019.
- [7] Fu ML, Cao SC, Li JS, et al. Controlling the main source of green tides in the Yellow Sea through the method of biological competition [J]. Mar Pollut Bull, 2022, 177: 113561.
- [8] Huan L, Shi MM, Wang XL, et al. Morphological characteristics and genetic diversity of floating and attached *Ulva prolifera* - a case study in the Yellow Sea, China [J]. Mar Pollut Bull, 2023, 195: 115468.
- [9] Chen ZH, Liu M, Yang YZ, et al. Environmental and economic impacts of different disposal options for *Ulva prolifera* green tide in the Yellow Sea, China [J]. ACS Sustainable Chem Eng, 2022, 10 (35): 11483-11492.
- [10] Smetacek V, Zingone A. Green and golden seaweed tides on the rise [J]. Nature, 2013, 504 (7478): 84-88.
- [11] Zhang YY, He PM, Li HM, et al. *Ulva prolifera* green-tide outbreaks and their environmental impact in the Yellow Sea, China [J]. Natl Sci Rev, 2019, 6 (4): 825-838.
- [12] 唐晓雯, 范美华, 王超峰, 等. 外源 CaCl₂ 调控浒苔 (*Ulva prolifera*) 高温逆境的比较转录组研究 [J]. 海洋与湖沼, 2021, 52 (3): 766-776.
Tang XW, Fan MH, Wang CF, et al. Comparative transcriptome study of *Ulva prolifera* to calcium chloride treatment under high temperature stress [J]. Oceanol Limnol Sin, 2021, 52 (3): 766-776.
- [13] Zhang XW, Wang HX, Mao YZ, et al. Somatic cells serve as a potential propagule bank of *Enteromorpha prolifera* forming a green tide in the Yellow Sea, China [J]. J Appl Phycol, 2010, 22 (2): 173-180.
- [14] 张健. 石莼属绿藻转录组测序及适应性进化机制研究 [D]. 青岛: 青岛科技大学, 2021.
Zhang J. Transcriptome sequencing and environmental adaptation analysis of *Ulva* [D]. Qingdao: Qingdao University of Science & Technology, 2021.
- [15] 王广策, 唐学玺, 何培民, 等. 浒苔光合作用等关键生理过程对环境因子响应途径的研究进展 [J]. 植物生理学报, 2016,

- 52 (11) : 1627-1636.
- Wang GC, Tang XX, He PM, et al. Progress of studies on the responses of the key physiological processes including photosynthesis in *Ulva prolifera* O.F.Müller to environmental factors [J]. *Plant Physiol J*, 2016, 52 (11) : 1627-1636.
- [16] Liu Q, Yu RC, Yan T, et al. Laboratory study on the life history of bloom-forming *Ulva prolifera* in the Yellow Sea [J]. *Estuar Coast Shelf Sci*, 2015, 163: 82-88.
- [17] 于仁成, 孙松, 颜天, 等. 黄海绿潮研究: 回顾与展望 [J]. *海洋与湖沼*, 2018, 49 (5) : 942-949.
- Yu RC, Sun S, Yan T, et al. Progresses and perspectives on green-tide studies in the Yellow Sea [J]. *Oceanol Limnol Sin*, 2018, 49 (5) : 942-949.
- [18] Jauzein C, Evans AN, Erdner DL. The impact of associated bacteria on morphology and physiology of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* [J]. *Harmful Algae*, 2015, 50: 65-75.
- [19] Fu HH, Jiang P, Zhao J, et al. Comparative genomics of *Pseudomonas* sp. strain SI-3 associated with macroalga *Ulva prolifera*, the causative species for green tide in the Yellow Sea [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 1458.
- [20] Qu TF, Hou CZ, Zhao XY, et al. Bacteria associated with *Ulva prolifera*: a vital role in green tide formation and migration [J]. *Harmful Algae*, 2021, 108: 102104.
- [21] Bell W, Mitchell R. Chemotactic and growth responses of marine bacteria to algal extracellular products [J]. *Biol Bull*, 1972, 143 (2) : 265-277.
- [22] Yadav G, Meena M. Bioprospecting of endophytes in medicinal plants of Thar Desert: an attractive resource for biopharmaceuticals [J]. *Biotechnol Rep*, 2021, 30: e00629.
- [23] Singh RP, Reddy CRK. Seaweed-microbial interactions: key functions of seaweed-associated bacteria [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2014, 88 (2) : 213-230.
- [24] Lasa AD, Auguste M, Lema A, et al. A deep-sea bacterium related to coastal marine pathogens [J]. *Environ Microbiol*, 2021, 23 (9) : 5349-5363.
- [25] Wichard T, Beemelmans C. Role of chemical mediators in aquatic interactions across the prokaryote-eukaryote boundary [J]. *J Chem Ecol*, 2018, 44 (11) : 1008-1021.
- [26] 包群靖, 毕芳玲, 蔡春尔, 等. 抗生素对浒苔形态及共附生细菌多样性的影响 [J]. *海洋科学*, 2023, 47 (4) : 108-116.
- Bao QJ, Bi FL, Cai CE, et al. Effects of antibiotics on the morphology and associated bacterial diversity of *Ulva prolifera* [J]. *Mar Sci*, 2023, 47 (4) : 108-116.
- [27] Blevins SM, Bronze MS. Robert Koch and the 'golden age' of bacteriology [J]. *Int J Infect Dis*, 2010, 14 (9) : e744-e751.
- [28] A guide to the identification of the Genera of bacteria [J]. *J Clin Pathol*, 1968, 21 (2) : 229-230.
- [29] 孙创, 王金燕, 张钰琳, 等. 利用改良培养基探究西太平洋海水可培养细菌多样性 [J]. *微生物学报*, 2021, 61 (4) : 845-861.
- Sun C, Wang JY, Zhang YL, et al. Exploring the diversity of cultivated bacteria in the Western Pacific waters through improved culture media [J]. *Acta Microbiol Sin*, 2021, 61 (4) : 845-861.
- [30] 陈騄, 林光恒, 沈世泽. 褐藻酸降解菌的研究——I. 褐藻酸降解菌与褐藻酶对海带藻体的作用 [J]. *海洋与湖沼*, 1979, 10 (4) : 329-333, 402.
- Chen D, Lin GH, Shen SZ. Studies on alginic acid decomposing bacteria I. Action of alginic acid decomposing bacteria and alginase on laminaria japonica [J]. *Oceanol Limnol Sin*, 1979, 10 (4) : 329-333, 402.
- [31] 武洪庆. 不同养殖海藻表面附着细菌多样性分析 [D]. 青岛: 中国科学院研究生院 (海洋研究所), 2012.
- Wu HQ. Epibacterial community structure of several macroalgae [D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2012.
- [32] 金柘. 绿潮浒苔共附生菌的多样性以及重要共附生菌影响其形态发育的研究 [D]. 济南: 山东师范大学, 2018.
- Jin Z. Study on the diversity of the *Ulva prolifera* epiphytic bacteria in green tide and the effect of important co-bacteria on the morphological development [D]. Jinan: Shandong Normal University, 2018.
- [33] 陈丽堂, 方荣祥, 吴建祥, 等. 植物内生细菌测定方法的研究进展 [J]. *微生物学通报*, 2022, 49 (3) : 1105-1119.
- Chen LY, Fang RX, Wu JX, et al. Research progress in the detection methods of endophytic bacteria [J]. *Microbiol China*, 2022, 49 (3) : 1105-1119.
- [34] Fisher MM, Wilcox LW, Graham LE. Molecular characterization of epiphytic bacterial communities on charophycean green algae [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1998, 64 (11) : 4384-4389.
- [35] Kientz B, Thabard M, Cragg SM, et al. A new method for removing

- microflora from macroalgal surfaces: an important step for natural product discovery [J]. *Botm*, 2011, 54 (5): 457-469.
- [36] 陈冉. 浒苔附生菌的初步研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2018.
- Chen R. Preliminary study on epiphytic bacteria of *Ulva prolifera* [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2018.
- [37] Liu XJ, Zhao J, Jiang P. Easy removal of epiphytic bacteria on *Ulva* (Ulvophyceae, Chlorophyta) by *Vortex* with silica sands [J]. *Microorganisms*, 2022, 10 (2): 476.
- [38] Alvarado P, Huang Y, Wang J, et al. Phylogeny and bioactivity of epiphytic Gram-positive bacteria isolated from three co-occurring Antarctic macroalgae [J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2018, 111 (9): 1543-1555.
- [39] Grueneberg J, Engelen AH, Costa R, et al. Macroalgal morphogenesis induced by waterborne compounds and bacteria in coastal seawater [J]. *PLoS One*, 2016, 11 (1): e0146307.
- [40] Zhao GH, He H, Wang HL, et al. Variations in marine bacterial and archaeal communities during an *Ulva prolifera* green tide in coastal Qingdao areas [J]. *Microorganisms*, 2022, 10 (6): 1204.
- [41] 苏秀榕, 秦松, 骆其君, 等. 浙江沿海藻类共生细菌的生理生化特性研究 [J]. *生态环境*, 2005, 14 (2): 239-241.
- Su XR, Qin S, Luo QJ, et al. Physiology and biochemistry characteristic of symbiosis bacteria on algae of Zhejiang coast [J]. *Ecol Environ Sci*, 2005, 14 (2): 239-241.
- [42] Tujula NA, Crocetti GR, Burke C, et al. Variability and abundance of the epiphytic bacterial community associated with a green marine Ulvacean alga [J]. *ISME J*, 2010, 4 (2): 301-311.
- [43] Nylund GM, Persson F, Lindegarth M, et al. The red alga *Bonne-maisonia asparagoides* regulates epiphytic bacterial abundance and community composition by chemical defence [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2010, 71 (1): 84-93.
- [44] Steen AD, Crits-Christoph A, Carini P, et al. High proportions of bacteria and Archaea across most biomes remain uncultured [J]. *ISME J*, 2019, 13 (12): 3126-3130.
- [45] 邢磊, 赵圣国, 郑楠, 等. 未培养微生物分离培养技术研究进展 [J]. *微生物学通报*, 2017, 44 (12): 3053-3066.
- Xing L, Zhao SG, Zheng N, et al. Advance in isolation and culture techniques of uncultured microbes: a review [J]. *Microbiol China*, 2017, 44 (12): 3053-3066.
- [46] Tyson GW, Chapman J, Hugenholtz P, et al. Community structure and metabolism through reconstruction of microbial genomes from the environment [J]. *Nature*, 2004, 428 (6978): 37-43.
- [47] Li S, Lian WH, Han JR, et al. Capturing the microbial dark matter in desert soils using culturomics-based metagenomics and high-resolution analysis [J]. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 2023, 9 (1): 67.
- [48] 王宗灵, 傅明珠, 肖洁, 等. 黄海浒苔绿潮研究进展 [J]. *海洋学报*, 2018, 40 (2): 1-13.
- Wang ZL, Fu MZ, Xiao J, et al. Progress on the study of the Yellow Sea green tides caused by *Ulva prolifera* [J]. *Haiyang Xuebao*, 2018, 40 (2): 1-13.
- [49] Croft MT, Lawrence AD, Raux-Deery E, et al. Algae acquire vitamin B₁₂ through a symbiotic relationship with bacteria [J]. *Nature*, 2005, 438 (7064): 90-93.
- [50] Califano G, Kwantes M, Abreu MH, et al. Cultivating the macroalgal holobiont: effects of integrated multi-trophic aquaculture on the microbiome of *Ulva rigida* (Chlorophyta) [J]. *Front Mar Sci*, 2020, 7: 52.
- [51] Wichard T. Exploring bacteria-induced growth and morphogenesis in the green macroalga order Ulvales (Chlorophyta) [J]. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 86.
- [52] Provasoli L, Pintner IJ. Bacteria induced polymorphism in an axenic laboratory strain of *Ulva lactuca* (Chlorophyceae) [J]. *J Phycol*, 1980, 16 (2): 196-201.
- [53] Matsuo Y, Suzuki M, Kasai H, et al. Isolation and phylogenetic characterization of bacteria capable of inducing differentiation in the green alga *Monostroma oxyspermum* [J]. *Environ Microbiol*, 2003, 5 (1): 25-35.
- [54] 吴春辉, 王峰, 赵瑾, 等. 浒苔原生质体再生苗对草丁膦与6种抗生素的敏感性 [J]. *海洋科学*, 2015, 39 (8): 1-6.
- Wu CH, Wang F, Zhao J, et al. Sensitivity of protoplast-regenerated seedling of *Ulva prolifera* to phosphinothricin and six kinds of antibiotics [J]. *Mar Sci*, 2015, 39 (8): 1-6.
- [55] Chen R, Cai C, Jiang T, et al. Growth and metagenomics analysis of *Ulva prolifera* after antibiotic treatment [J]. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2019, 21 (5): 1031-1035.
- [56] 王瑜. 黄海绿潮浒苔生长发育的分子机理研究 [D]. 济南: 山东大学, 2020.
- Wang Y. Molecular mechanism of growth and development of the green tides forming alga *Ulva prolifera* in the Yellow Sea [D].

- Jinan: Shandong University, 2020.
- [57] Matsuo Y, Imagawa H, Nishizawa M, et al. Isolation of an algal morphogenesis inducer from a marine bacterium [J]. *Science*, 2005, 307 (5715) : 1598.
- [58] Marshall K, Joint I, Callow ME, et al. Effect of marine bacterial isolates on the growth and morphology of axenic plantlets of the green alga *Ulva linza* [J]. *Microb Ecol*, 2006, 52 (2) : 302-310.
- [59] Berglund H. Stimulation of growth of two marine green algae by organic substances excreted by *Enteromorpha linza* in unialgal and axenic cultures [J]. *Physiol Plant*, 1969, 22 (5) : 1069-1073.
- [60] Spoerner M, Wichard T, Bachhuber T, et al. Growth and thallus morphogenesis of *Ulva mutabilis* (Chlorophyta) depends on A combination of two bacterial species excreting regulatory factors [J]. *J Phycol*, 2012, 48 (6) : 1433-1447.
- [61] Alsufyani T, Weiss A, Wichard T. Time course exo-metabolomic profiling in the green marine macroalga *Ulva* (Chlorophyta) for identification of growth phase-dependent biomarkers [J]. *Mar Drugs*, 2017, 15 (1) : 14.
- [62] Wichard T. From model organism to application: bacteria-induced growth and development of the green seaweed *Ulva* and the potential of microbe leveraging in algal aquaculture [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2023, 134: 69-78.
- [63] 刘晓杰. 浒苔 (*Ulva prolifera*) 共附生细菌群落结构分析的方法学创新与 CFB 类群的初步研究 [D]. 青岛: 中国科学院研究生院 (海洋研究所), 2015.
- Liu XJ. Methodological innovation for analysis of the bacterial community structure and the study of CFB group associated with *Ulva prolifera* [D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2015.
- [64] Ghaderiardakani F, Coates JC, Wichard T. Bacteria-induced morphogenesis of *Ulva intestinalis* and *Ulva mutabilis* (Chlorophyta): a contribution to the lottery theory [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2017, 93 (8) : fix094.
- [65] Alsufyani T, Califano G, Deicke M, et al. Macroalgal-bacterial interactions: identification and role of thallusin in morphogenesis of the seaweed *Ulva* (Chlorophyta) [J]. *J Exp Bot*, 2020, 71 (11) : 3340-3349.
- [66] Hiraoka M, Ichihara K, Zhu WR, et al. Culture and hybridization experiments on an ulva clade including the Qingdao strain blooming in the Yellow Sea [J]. *PLoS One*, 2011, 6 (5) : e19371.
- [67] Maruyama A, Maeda M, Simidu U. Distribution and classification of marine bacteria with the ability of cytokinin and auxin production [J]. *Bull Jpn Soc Microb Ecol*, 1990, 5 (1) : 1-8.
- [68] 穆文强, 康慎敏, 李平兰. 根际促生菌对植物的生长促进作用及机制研究进展 [J]. *生命科学*, 2022, 34 (2) : 118-127.
- Mu WQ, Kang SM, Li PL. Advances in rhizosphere growth-promoting bacteria function on plant growth facilitation and their mechanisms [J]. *Chin Bull Life Sci*, 2022, 34 (2) : 118-127.
- [69] Zhao XY, Tang XX, Zhang HX, et al. Photosynthetic adaptation strategy of *Ulva prolifera* floating on the sea surface to environmental changes [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2016, 107: 116-125.
- [70] Shi XY, Qi MY, Tang HJ, et al. Spatial and temporal nutrient variations in the Yellow Sea and their effects on *Ulva prolifera* blooms [J]. *Estuar Coast Shelf Sci*, 2015, 163: 36-43.
- [71] Li HM, Zhang YY, Han XR, et al. Growth responses of *Ulva prolifera* to inorganic and organic nutrients: implications for macroalgal blooms in the southern Yellow Sea, China [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 26498.
- [72] 蒋雪蕾, 周晓见, 林佳宁, 等. 黄海浒苔绿潮生态效应研究进展 [J]. *海洋环境科学*, 2021, 40 (4) : 647-652.
- Jiang XL, Zhou XJ, Lin JN, et al. Research progress in the ecological consequences of *Ulva prolifera* green tides in the Yellow Sea [J]. *Mar Environ Sci*, 2021, 40 (4) : 647-652.
- [73] 梅香远. 黄海金潮与绿潮致因种的共附生细菌群落结构与功能 [D]. 青岛: 中国科学院大学 (中国科学院海洋研究所), 2019.
- Mei XY. Community structures and functions of bacteria associated with blooming seaweeds in the Yellow Sea [D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2019.
- [74] 邹迪, 肖琳, 杨柳燕, 等. 不同形态磷源对铜绿微囊藻与附生假单胞菌磷代谢的影响 [J]. *环境科学*, 2005, 26 (3) : 118-121.
- Zou D, Xiao L, Yang LY, et al. Effects of phosphorus sources of different forms on phosphorus metabolism of *Microcystis aeruginosa* and adhesive *Pseudomonas* sp. [J]. *Environ Sci*, 2005, 26 (3) : 118-121.
- [75] Wang WL, Wu L, Xu K, et al. The cultivation of *Pyropia haitanensis* has important impacts on the seawater microbial community [J]. *J Appl Phycol*, 2020, 32 (4) : 2561-2573.

- [76] Wahyudi A, Astuti R, Widyawati A, et al. Characterization of *Bacillus* sp. strains isolated from rhizosphere of soybean plants for their use as potential plant growth for promoting rhizobacteria [J]. J Microbiol Antimicrob, 2011, 3 (2): 34-40.
- [77] 龚国利, 王亮, 王旭阳, 等. 植物内生芽孢杆菌的研究进展 [J]. 生物学杂志, 2020, 37 (3): 91-95.
Gong GL, Wang L, Wang XY, et al. Research advances in plant endophytes Bacillaceae [J]. J Biol, 2020, 37 (3): 91-95.
- [78] 张亚茹, 张伟涛, 王硕, 等. 枯草芽孢杆菌 N₂-10 体外益生特性评价 [J]. 饲料工业, 2020, 41 (24): 12-17.
Zhang YR, Zhang WT, Wang S, et al. Evaluation of *in vitro* probiotic properties of *Bacillus subtilis* N₂-10 [J]. Feed Ind, 2020, 41 (24): 12-17.
- [79] Crosbie DB, Mahmoudi M, Radl V, et al. Microbiome profiling reveals that *Pseudomonas* antagonises parasitic nodule colonisation of cheater rhizobia in Lotus [J]. New Phytol, 2022, 234 (1): 242-255.
- [80] 李畅, 平文祥, 葛菁萍, 等. 微藻与其他微生物共培养的研究进展及应用 [J]. 生物工程学报, 2022, 38 (2): 518-530.
Li C, Ping WX, Ge JP, et al. Advances in the co-culture of microalgae with other microorganisms and applications [J]. Chin J Biotechnol, 2022, 38 (2): 518-530.
- [81] 田川. 太湖浮游细菌分子生态学及溶藻细菌的研究 [D]. 上海: 上海交通大学, 2012.
Tian C. Research on bacterioplankton diversity and the algicidal bacteria in Lake Taihu [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2012.
- [82] Kawano Y, Nagawa Y, Nakanishi H, et al. Production of thiotropocin by a marine bacterium, *Caulobacter* sp. and its antimicrobial activities [J]. J Marine Biotechnology, 1997, 5: 225-229.
- [83] Yang F, Wei HY, Li XQ, et al. Isolation and characterization of an algicidal bacterium indigenous to Lake Taihu with a red pigment able to lyse *Microcystis aeruginosa* [J]. Biomed Environ Sci, 2013, 26 (2): 148-154.
- [84] Zhang X, Song T, Ma H, et al. Physiological response of *Microcystis aeruginosa* to the extracellular substances from an *Aeromonas* sp. [J]. RSC Adv, 2016, 6 (105): 103662-103667.
- [85] 陈莉婷, 左俊, 陶思依, 等. 利用微生物控制蓝藻研究进展 [J]. 武汉大学学报: 理学版, 2019, 65 (4): 401-410.
Chen LT, Zuo J, Tao SY, et al. Progress in control of cyanobacteria by microorganism [J]. J Wuhan Univ Nat Sci Ed, 2019, 65 (4): 401-410.
- [86] Imai I, Ishida Y, Hata Y. Killing of marine phytoplankton by a gliding bacterium *Cytophaga* sp., isolated from the coastal sea of Japan [J]. Mar Biol, 1993, 116 (4): 527-532.
- [87] 叶益华, 杨旭楠, 胡文哲, 等. 溶藻细菌的功能多样性及其菌剂应用 [J]. 微生物学报, 2022, 62 (4): 1171-1189.
Ye YH, Yang XN, Hu WZ, et al. Advances in functional diversity and application of algicidal bacteria [J]. Acta Microbiol Sin, 2022, 62 (4): 1171-1189.
- [88] Joint I, Callow ME, Callow JA, et al. The attachment of *Enteromorpha* zoospores to a bacterial biofilm assemblage [J]. Biofouling, 2000, 16 (2/3/4): 151-158.
- [89] Patel P, Callow ME, Joint I, et al. Specificity in the settlement - modifying response of bacterial biofilms towards zoospores of the marine alga *Enteromorpha* [J]. Environ Microbiol, 2003, 5 (5): 338-349.
- [90] 李孟珂, 夏运生, 单壮壮, 等. 三株蓝藻附着细菌多样性及其对铜绿微囊藻增殖的影响 [J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2019, 41 (6): 1238-1245.
Li MK, Xia YS, Shan ZZ, et al. Diversity of bacteria associated with three strains of cyanobacteria and their effects on the proliferation of *Microcystis aeruginosa* [J]. J Yunnan Univ Nat Sci Ed, 2019, 41 (6): 1238-1245.
- [91] 刘雅萌. 浒苔光合生理特性对海洋环境变化的响应 [D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
Liu YM. The responses of photosynthetic physiological characteristics in *Ulva* species to the changes of marine environment [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014.
- [92] 耿慧霞. 黄海绿潮原因种浒苔 (*Ulva prolifera*) 的附着生长特性与沉降区域研究 [D]. 北京: 中国科学院大学, 2017.
Geng HX. Study on the growth characteristics and subsidence area of *Ulva prolifera*, the cause of green tide in the Yellow Sea [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2017.
- [93] 周新倩, 杨锐, 吴小凯, 等. 基于 16S rDNA 分析的浒苔外生细菌多样性研究 [J]. 水产学报, 2016, 40 (1): 110-118.
Zhou XQ, Yang R, Wu XK, et al. Diversity of *Ulva* spp. (*Enteromorpha* spp.) epiphytic bacteria based on 16S rDNA sequences [J]. J Fish China, 2016, 40 (1): 110-118.
- [94] 杨华田, 熊玉琴, 杨锐. 高温下芽孢杆菌对坛紫菜生长及生理

- 的影响 [J]. 水产学报, 2018, 42 (7): 1009-1018.
- Yang HT, Xiong YQ, Yang R. Effects of *Bacillus* sp. on *Pyropia haitanensis* at high temperature [J]. J Fish China, 2018, 42 (7): 1009-1018.
- [95] 张忠山, 王晓梅, 刘峰, 等. 石莼属绿藻应答环境胁迫的生理特征与机制研究进展 [J]. 海洋环境科学, 2020, 39 (3): 473-479.
- Zhang ZS, Wang XM, Liu F, et al. Analysis of physiology and regulation mechanism of *Ulva* under stress [J]. Mar Environ Sci, 2020, 39 (3): 473-479.
- [96] 高珍. 浒苔生理生态特性和转录组研究 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2010.
- Gao Z. Study on physiological characteristics and the transcriptome of *Enteromorpha prolifera* [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2010.
- [97] 马茜, 王玉珏, 孙西艳, 等. 光和温度对两种绿潮藻光合途径及抗氧化功能的影响 [J]. 海洋学报, 2020, 42 (8): 21-29.
- Ma Q, Wang YJ, Sun XY, et al. Effects of light and temperature on the photosynthetic pathway and antioxidant function of two green tide species [J]. Haiyang Xuebao, 2020, 42 (8): 21-29.
- [98] You ZZ, Zhang Q, Peng Z, et al. Lipid droplets mediate salt stress tolerance in *Parachlorella kessleri* [J]. Plant Physiol, 2019, 181 (2): 510-526.
- [99] 周璇. 高盐胁迫下细菌—微藻的相互作用研究 [D]. 武汉: 华中师范大学, 2017.
- Zhou X. Interaction between microalga and bacteria under high salt stress condition [D]. Wuhan: Central China Normal University, 2017.
- [100] 邓凤飞, 杨双龙, 龚明. 细胞信号分子对非生物胁迫下植物脯氨酸代谢的调控 [J]. 植物生理学报, 2015, 51 (10): 1573-1582.
- Deng FF, Yang SL, Gong M. Regulation of cell signaling molecules on proline metabolism in plants under abiotic stress [J]. Plant Physiol J, 2015, 51 (10): 1573-1582.
- [101] 朱铭杰, 梅香远. 浒苔共附生菌——假交替单胞菌抗寒基因的筛选和应用 [J]. 教育现代化, 2018, 5 (44): 267-274.
- Zhu RJ, Mei XY. Screening and application of cold-resistant genes of *Ulva prolifera* symbiotic and epiphytic bacteria, *Pseudomonas* sp. [J]. Educ Mod, 2018, 5 (44): 267-274.
- [102] 朱强, 夏艳秋, 顾冬莹, 等. 浒苔降解菌分离筛选与鉴定 [J]. 安徽农业科学, 2017, 45 (32): 152-155.
- Zhu Q, Xia YQ, Gu DY, et al. Isolation, screening and identification of *Enteromorpha prolifera* degrading bacterial strain [J]. J Anhui Agric Sci, 2017, 45 (32): 152-155.
- [103] 宋琳. 几种大型海藻硫酸多糖免疫相关活性及转录组学研究 [D]. 青岛: 中国科学院大学 (中国科学院海洋研究所), 2016.
- Song L. Immunomodulatory-related activity and RNA-seq research of six macroalgae's sulfated polysaccharides [D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2016.
- [104] 李响, 周锡红, 赵玉蓉. 浒苔提取物成分分析及其生理功能研究进展 [J]. 动物营养学报, 2019, 31 (12): 5468-5475.
- Li X, Zhou XH, Zhao YR. Research progress on constituents of *Ulva prolifera* extract and their biological function [J]. Chin J Anim Nutr, 2019, 31 (12): 5468-5475.
- [105] 顾铁基. 青岛潮间带沉积物细菌、浒苔多糖降解细菌的多样性分析及 PL37 家族浒苔多糖裂解酶的酶学性质研究 [D]. 济南: 山东大学, 2021.
- Gu TJ. Diversity analysis of culturable bacteria in intertidal sediment of Qingdao and *Enteromorpha prolifera* polysaccharide degrading bacteria and the enzymatic properties of A PL37 family *Enteromorpha prolifera* polysaccharide lyase [D]. Jinan: Shandong University, 2021.
- [106] 耿玉慧. 藻类附生菌多样性、多相分类鉴定及浒苔多糖降解酶的研究 [D]. 济南: 山东大学, 2021.
- Geng YH. Studies on diversity and polyphasic identification of macroalgal epiphytic bacteria and *Enteromorpha prolifera* polysaccharide degrading enzymes [D]. Jinan: Shandong University, 2021.
- [107] Li YP, Li WH, Zhang GL, et al. Purification and characterization of polysaccharides degradases produced by *Alteromonas* sp. A321 [J]. Int J Biol Macromol, 2016, 86: 96-104.
- [108] 苑志欣. 抗肿瘤浒苔共生微生物的筛选及其活性产物的研究 [D]. 青岛: 青岛大学, 2018.
- Yuan ZX. Screening of anti-tumor symbiotic microorganisms of *Enteromorpha prolifera* and study on the active substance isolated from them [D]. Qingdao: Qingdao University, 2018.