

李汉全, 张炳火, 杨建远, 等. *Streptomyces eurocidicus* JXJ 0089 对铜绿微囊藻的抑制[J]. 江苏农业学报, 2015, 31 (5) : 1037-1044.

doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2015.05.015

Streptomyces eurocidicus JXJ 0089 对铜绿微囊藻的抑制

李汉全, 张炳火, 杨建远, 查代明, 过七根, 石翔, 郭静

(九江学院药学与生命科学学院, 江西 九江 332000)

摘要: 采用藻平板法, 筛选到 1 株对铜绿微囊藻具有抑制活性的放线菌。根据形态鉴定和 16S rRNA 基因序列分析, 鉴定为 *Streptomyces eurocidicus* JXJ 0089。研究了该放线菌培养时间、活性成分的极性、孢子或菌丝体与无细菌藻或有细菌藻的相互影响、附生细菌对藻细胞和放线菌的影响。结果表明, *S. eurocidicus* JXJ 0089 培养 11 d 后, 抑藻活性较强, 活性成分含有多种极性不同的物质; 放线菌孢子对藻细胞没有抑制作用, 但菌丝体显著抑制藻细胞生长, 且对无细菌藻的抑制活性显著高于有细菌藻; 藻细胞亦抑制放线菌, 尤其是抑制放线菌孢子萌发; 附生细菌对铜绿微囊藻生长有促进作用, 而对放线菌有抑制作用, 这是放线菌菌丝体对有细菌藻的抑制活性低于无细菌藻的重要原因, 也是放线菌的孢子和菌丝体在有细菌藻液中死亡的主要原因。

关键词: 铜绿微囊藻; *Streptomyces eurocidicus*; 抑制活性; 附生细菌

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2015)05-1037-08

Cyanobacteria-lytic activity of *Streptomyces eurocidicus* JXJ 0089 against *Microcystis aeruginosa*

LI Han-quan, ZHANG Bing-huo, YANG Jian-yuan, ZHA Dai-ming, GUO Qi-gen, SHI Xiang, GUO Jing

(College of Pharmacy and Life Science, Jiujiang University, Jiujiang 332000, China)

Abstract: An actinomycete strain, with inhibition activity on *Microcystis aeruginosa*, was screened out using algae lawn. Based on the morphology and 16S rRNA gene sequence analysis, the strain was identified as *Streptomyces eurocidicus* JXJ 0089. After incubated for 11 d, the culture broth of *S. eurocidicus* JXJ 0089 exhibited strong inhibitory activity on *M. aeruginosa*, and the active components contained metabolites different polarities. It was not the spores of *S. eurocidicus* JXJ 0089 but the mycelia yielded inhibitory activity on *M. aeruginosa*. and the activity was stronger on pure culture of *M. aeruginosa* than on the impure. *M. aeruginosa* inhibited *S. eurocidicus* JXJ 0089 as well, especially the germination of the spores. Attached bacteria of *M. aeruginosa* promoted the growth of *M. aeruginosa*, but inhibited the growth of *S. eurocidicus* JXJ 0089, which might be responsible for the higher inhibitory effect on pure *M. aeruginosa* and the death of spores and mycelia of *S. eurocidicus* JXJ 0089 in the culture of impure *M. aeruginosa*.

Key words: *Microcystis aeruginosa*; *Streptomyces eurocidicus*; inhibitory activity; attached bacterium

收稿日期: 2015-03-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(31060010); 江西省科技计划项目(20111BBG70012-4); 江西省环保厅科技项目(JXH-BKJ2013-14); 江西省教育厅科技项目(GJJ10619)

作者简介: 李汉全(1962-), 男, 江西九江人, 本科, 副教授, 主要研究方向为微生物资源。(E-mail) lihanquan62@126.com

通讯作者: 张炳火, (E-mail) binghuozh@126.com

蓝藻水华是世界性的水污染问题, 暴发时产生大量蓝藻毒素, 造成严重的环境问题^[14], 威胁人类

健康^[5],给水产养殖业带来巨大的经济损失^[6-7]。随着全球气候变暖、富营养化加剧,蓝藻水华发生频率日益增加,水华水体藻毒素浓度也越来越高^[8]。虽然目前有物理、化学和生物操纵等多种水华防治方法,但这些方法具有诸多缺点,如成本高、容易造成二次污染,选择毒性差或者只能适应小面积水域^[9-13]。因此,迫切需要寻找新型、高效、环保的蓝藻水华防治方法。

研究结果表明,环境中存在大量的抑藻放线菌,这些放线菌可分泌许多抑藻活性成分,杀死藻细胞,诸如赖氨酸^[14]、链霉素^[15, 16]、niromycin A^[17]、anthracidin A^[18]、万古霉素、D-环丝氨酸、新生霉素^[19]、七尾霉素 A 甲酯^[20]和 2-hydroxy-12-oleanene-3,28-O-D-glucopyranosyl^[21]等,其中部分化合物对水华蓝藻选择毒性好,如赖氨酸对微囊藻具有抑藻活性,但是对硅藻和绿藻却没有毒性^[22]。因此,抑藻放线菌及其代谢产物在水华蓝藻防治中具有重要的潜在应用价值。

铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)是引起水华的最常见藻种^[23-24],是微囊藻毒素的主要生产者^[25],也是中国蓝藻水华的主要藻种。本研究以铜绿微囊藻 FACHB-905 为指示藻,筛选抑藻放线菌,并初步研究其对铜绿微囊藻的抑藻活性及其部分影响因素。

1 材料与方法

1.1 指示藻

铜绿微囊藻(*M. aeruginosa* FACHB-905),购自中国科学院水生生物研究所淡水藻种库,并利用平板划线法进行纯化,获得无菌藻株。藻种在 25 ℃、30 ~ 50 μmol/(m²·s)、光暗比为 12 h : 12 h 的条件下静置培养,每天摇动 4 次,每次 30 s 左右,藻培养基为 HGZ 培养基。藻平板制作参照文献^[26]进行。

HGZ 液体培养基: NaNO₃ 496.0 mg, KH₂PO₄ 39.0 mg, MgSO₄·7H₂O 75.0 mg, CaCl₂·2H₂O 36.0 mg, Na₂SiO₃·9H₂O 58.0 mg, 土壤提取液 3.0 ml, 金属盐溶液 3.0 ml (Na₂-EDTA 75.0 mg, FeCl₃·6H₂O 9.7 mg, MnCl₂·4H₂O 4.1 mg, ZnCl₂ 0.5 mg, CoCl₂·6H₂O 0.2 mg, Na₂MoO₄·2H₂O 0.4 mg, 蒸馏水 100.0 ml), 蒸馏水 994.0 ml, pH 8.0 ~ 8.5。

1.2 抑藻放线菌的筛选及形态鉴定和 16S rRNA 系统发育分析

采用点接法,将土壤中分离的放线菌接种于

YIM 38[#]固体平板培养基^[27],28 ℃下培养 4 ~ 7 d 后,用无菌打孔器将长有菌落的琼脂块取出并置于藻平板上,按照方法 1.1 的条件培养,3 d 后观察抑藻圈的产生情况,并根据抑藻圈有无判断菌株是否产生抑藻活性物质。

参照文献^[27]对菌株的形态进行鉴定以及对 16S rRNA 基因序列进行系统发育分析。采用埋片法制备放线菌菌丝样本,利用扫描电镜观察菌丝形态。采用溶菌酶法提取基因组 DNA,用细菌通用引物 primer A (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 primer B (5'-TACGGCTACCTTGTACGACTT-3') 进行 PCR 扩增,检测序列,并将其 16S rRNA 基因序列在 GenBank 核酸序列数据库中进行序列同源性比较,通过 CLUSTALX 和 MEGA 软件进行序列比对分析,并以 Neighbor-Joining 法构建系统发育树。

1.3 菌株 JXJ 0089 液体培养时间

将生长良好的斜面菌种接入 YIM 38[#]液体培养基,培养 48 h 后,按照 10% (体积比)的接种量接入无菌液体培养基(组成:葡萄糖 15.0 g,大豆粉 15.0 g,酵母浸粉 2.0 g,淀粉 10.0 g,蛋白胨 2.0 g,麦芽浸粉 2.0 g, NaCl 4.0 g, K₂HPO₄ 0.4 g, MgSO₄·7H₂O 0.5 g, CaCO₃ 2.0 g, H₂O 1 000 ml, pH 7.8),于 180 r/min、28 ℃摇床培养,每 24 h 取样 1 次,连续取样 13 次,培养液在 4 500 r/min 的条件下离心 10 min,上清液置于无菌容器中,于 4 ℃冰箱冷藏备用。取 2% (体积比)的上清液加入铜绿微囊藻藻液(5×10⁶ CFU/ml)中,采用方法 1.1 的培养条件进行培养,3 d 后采用热乙醇法测藻液的叶绿素 a (Chl. a) 含量^[28],并根据抑藻效率(%)=(1-C_i/C_e)×100% (C_e和 C_i分别为对照组和试验组 Chl. a 的浓度)计算抑藻效率,根据各样品抑藻效率确定发酵时间。

1.4 上清液抑藻活性组分分析

将放线菌培养液的上清液进行真空冷冻干燥,干燥物分别用乙酸乙酯、甲醇和去离子水溶解,减压蒸馏除去各样品溶液的溶剂后称质量,再将各样品配制为 2 μg/μl 的溶液,用移液器取 20 μl 溶液于无菌滤纸片(直径为 0.6 cm)上,置于无菌培养皿中,待溶剂完全挥发后将滤纸片再置于藻平板上,按照方法 1.1 中的方法培养 1 ~ 3 d 后,用游标卡尺测量抑藻圈直径,根据抑藻圈直径判断样品抑藻活性强弱,并利用薄层层析(TLC)硅胶板进行分析,利用 Anis 显色剂^[29]和茚三酮显色剂显色。

1.5 菌株 JXJ 0089 的孢子、菌丝体和藻液之间的相互影响

1.5.1 菌株 JXJ 0089 孢子与铜绿微囊藻和藻液之间的相互影响 取纯化的无菌藻和未纯化的有菌藻各 100 ml (5×10^6 CFU/ml), 分别加入 2 ml 放线菌孢子悬液 (1.0×10^7 CFU/ml), 8 d 后检测抑藻效率。并用显微镜观察藻液中是否存在放线菌菌丝体, 并取 0.1 ml 藻液涂布于 YIM 38[#] 固体平板上, 28 °C 下培养, 连续观察 7 d, 记录放线菌和细菌的生长情况。对照组试验藻液加入 2 ml 无菌水。

1.5.2 菌株 JXJ 0089 菌丝体与铜绿微囊藻之间的相互影响 分别取 0 g、0.15 g、0.30 g、0.45 g 和 0.60 g 菌丝体 (湿质量), 加入 100 ml (5×10^6 CFU/ml) 无菌藻和有菌藻中, 8 d 后测抑藻效率。用显微镜观察藻液中放线菌的菌丝形态, 并取 0.1 ml 藻液涂布于 YIM 38[#] 固体平板上, 于 28 °C 下培养, 连续观察 7 d, 记录放线菌和细菌生长情况。

1.6 藻液中抑制放线菌 JXJ 0089 的细菌

采用平板划线法, 对藻液中的细菌进行分离纯化, 在获得纯培养细菌后, 再将其点接于涂布有放线菌 JXJ 0089 孢子的平板培养基上, 培养 3 d 后观察细菌菌落周围是否出现抑菌圈。提取有拮抗活性的细菌的基因组, 对其 16S rRNA 基因序列进行系统发育分析。

2 结果与分析

2.1 抑藻放线菌的筛选及形态鉴定和 16S rRNA 系统发育分析

试验结果显示, 对照组 YIM 38[#] 培养基在藻平板上未产生明显抑藻圈, 而用于筛选的 160 株放线菌中, 35 株能够在藻平板上形成明显的抑藻圈, 其中放线菌 JXJ 0089 形成的抑藻圈较透明, 这说明该菌产生的代谢产物抑藻活性较强, 或者活性成分的含量较高, 因此选为后续研究菌株。

放线菌 JXJ 0089 在固体平板上生长初期气丝相对较少, 但随着培养时间的延长, 气丝变得极为发达, 灰白色, 基丝灰褐色, 产生水溶性黄褐色色素, 孢子丝与 *S. eurocidicus*^[30] 类似, 为典型链状轮生, 孢子椭圆形, 表面光滑 (图 1)。16S rRNA 基因序列 (1 529 bp; GenBank 登录号: KP193140) 分析结果表明, 放线菌 JXJ 0089 属于链霉菌属 (*Streptomyces*) 的成员, 与 *S. eurocidicus* NRRL B-1676^T 亲缘关系最近

(99.73%), 采用邻接法构建系统进化树, 该菌和 *S. eurocidicus* NRRL B-1676^T 聚在单独的一支上 (图 2)。结合形态特征, 将放线菌 JXJ 0089 鉴定为 *Streptomyces eurocidicus* JXJ 0089。



图 1 菌株 JXJ 0089 在 YIM 38[#] 培养基上 28 °C 培养 14 d 后孢子丝的扫描电镜照片

Fig. 1 Scanning electron micrograph of spore chains of *S. eurocidicus* JXJ 0089 after growth on YIM 38[#] medium at 28 °C for 14 d

2.2 菌株 JXJ 0089 培养时间

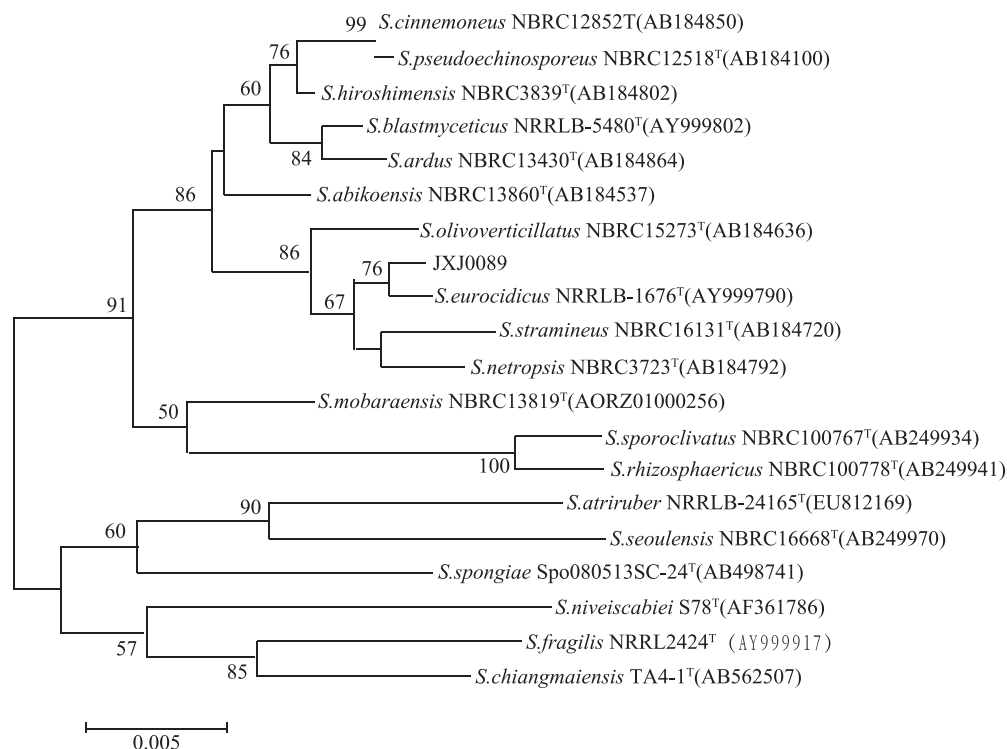
由图 3 可知, 菌株 JXJ 0089 在 28 °C、180 r/min 的条件下培养 11 d 后, 其上清液抑藻效率为 $88.02\% \pm 1.63\%$, 此后变化不明显, 因此确定发酵时间为 12 d。

2.3 上清液抑藻活性组分分析

抑藻活性组分分析结果显示, 乙酸乙酯溶解的组分抑藻活性较弱, 抑藻圈直径为 8.92 mm, 甲醇溶解的组分抑藻活性较强, 抑藻圈直径为 13.65 mm, 去离子水溶解的组分, 抑藻活性最强, 抑藻圈直径为 16.73 mm, 这说明该菌产生多种抑藻活性物质。TLC 检测和显色剂显示结果表明, 乙酸乙酯和甲醇溶解部分的代谢产物化学多样性丰富, 而水溶性成分茚三酮显色明显, 主要为含氨基的化合物。

2.4 放线菌的孢子、菌丝体与铜绿微囊藻之间的相互影响

2.4.1 孢子与铜绿微囊藻之间的相互影响 抑藻活性分析结果显示, 放线菌 JXJ 0089 的孢子对无细菌藻的抑藻效率为 $2.17\% \pm 4.06\%$, 对有细菌藻的抑藻效率为 $6.53\% \pm 3.88\%$, 两种情况下的抑藻效率没有显著差异 ($P > 0.05$), 与对照组相比, 其 Chl. a 含量也均无显著差异 ($P > 0.05$)。显微镜观察结果显示, 在无细菌藻液和有细菌藻液中, 孢子均未萌发。涂布培养结果显示, 加入放线菌孢子的无细菌



≥50% 的步长值 (以重复 1 000 次的百分率表示) 在节点处标注; 标尺: 0.5% 的序列分歧度。

图 2 菌株 JXJ 0089 及亲缘关系最近的相关种以邻接法构建的 16S rRNA 基因系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of strain JXJ 0089 and other related species of *Streptomyces* based on 16S rRNA gene sequences by neighbour-joining

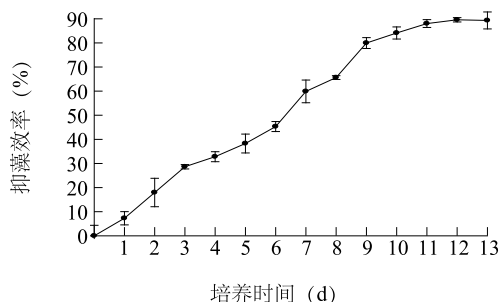
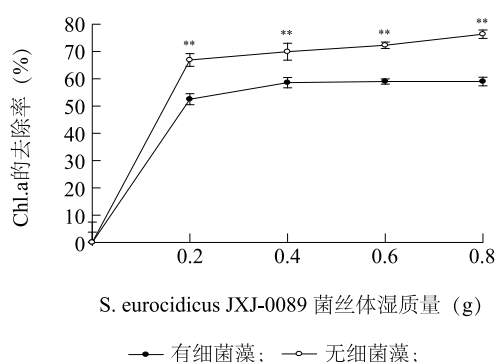


图 3 培养时间对 *S. eurocidicus* JXJ 0089 抑藻活性的影响

Fig. 3 Influence of culture time on the inhibitory activity of *S. eurocidicus* JXJ 0089

藻液涂布培养 1~2 d 后, 平板上即长出大量放线菌菌落, 但加入放线菌孢子的有细菌藻液涂布培养 7 d 后, 平板上仍然未长出放线菌菌落, 这说明, 无细菌藻液中的放线菌孢子的萌发虽然受到藻液抑制, 但并未死亡, 因此涂布在固体培养基上能够迅速萌发生长; 而在有细菌藻液中的放线菌孢子已经死亡, 因此涂布在固体培养基上长时间培养后仍未见萌发生长。

2.4.2 菌丝体与铜绿微囊藻之间的相互影响 由图 4 可知, 在 100 ml 藻液中加入 0.2 g 菌丝体培养 8 d 后, 有细菌藻和无细菌藻中 Chl. a 的去除率分别为 52.51% ± 2.02% 和 66.89% ± 2.34%, 但随着菌丝体的继续增加, Chl. a 的去除率没有大幅度增加, 即使菌丝体增加到 0.8 g, 有细菌藻和无细菌藻中 Chl. a 的去除率也仅分别为 59.00% ± 1.98% 和 76.35% ± 1.55%。在藻细胞初始浓度相同的情况下, 菌株 JXJ 0089 菌丝体对无细菌藻 Chl. a 的去除率显著高于有细菌藻 ($P < 0.01$)。显微镜观察显示, 无论是在有细菌藻中还是在无细菌藻中, 放线菌 JXJ 0089 的菌丝形态没有明显变化。但平板涂布培养试验结果显示, 加入放线菌菌丝的无细菌藻液涂布培养 1~2 d 后, 即长出大量放线菌菌落, 而加入放线菌菌丝的有菌藻液涂布培养 7 d 后, 仍然未见放线菌长出, 这说明, 在无细菌藻液中的放线菌菌丝体未死亡, 而在有细菌藻液中的放线菌菌丝体已经死亡。



** 表示无细菌藻与有细菌藻之间差异极显著 ($P < 0.01$)。

图4 放线菌 JXJ 0089 的菌丝体对有细菌藻和无细菌藻叶绿素 a (Chl. a) 的去除率

Fig. 4 The removal rates of Chl. a in the impure and pure culture of *M. aeruginosa* by the mycelia of actinomycete strain JXJ 0089

2.5 藻液中抑制放线菌的细菌

经平板划线,从 *M. aeruginosa* FACHB-905 培养液中纯化到 19 株细菌,抑菌试验发现,4 株细菌(编号分别为 CY-7、CY-12、CY-16 和 CY-19)的菌落周围出现明显的抑菌圈,表明它们对放线菌 JXJ 0089 具有抑制作用。16S rRNA 基因序列分析结果表明,细菌 CY-7 与 *Sphingomonas koreensis* JSS26^T 亲缘关系最近,序列相似性为 98.42%,在系统进化树上它们聚在一支(图 5A);细菌 CY-12 (1 420 bp) 与 *Pseudomonas azotoformans* IAM1603^T 亲缘关系最近,为 99.72%,在系统进化树上它们聚在一支(图 5B);细菌 CY-16 (1 410 bp) 与 *Agrococcus terreus* DNG5^T 的亲缘关系最近,为 99.72%,在系统进化树上它们聚在一支(图 5C);细菌 CY-19 (1 541 bp) 与 *Modestobacter marinus* 42H12-1^T 的亲缘关系最近,为 99.12%,在系统进化树上它们聚在一支(图 5D)。这些细菌产生何种物质抑制抑藻放线菌 JXJ 0089,以及这些细菌对铜绿微囊藻的生长有何影响,目前正在进一步研究中。

3 讨论

抑藻放线菌广泛存在于水陆环境中,且对水华蓝藻具有抑制作用的菌株比率很高^[14, 31],这与本研究结果一致。目前发现的抑制蓝藻的放线菌主要为链霉菌,如 *S. achromogenes*^[32]、*S. phaeofaciens*^[14]、*S. jiujiangensis*^[33]、*S. lushanensis*^[34]、*S. exfoliates*^[35]、*S. endus*^[17]、*S. neyagawaensis*^[18, 36] 和 *S. he-*

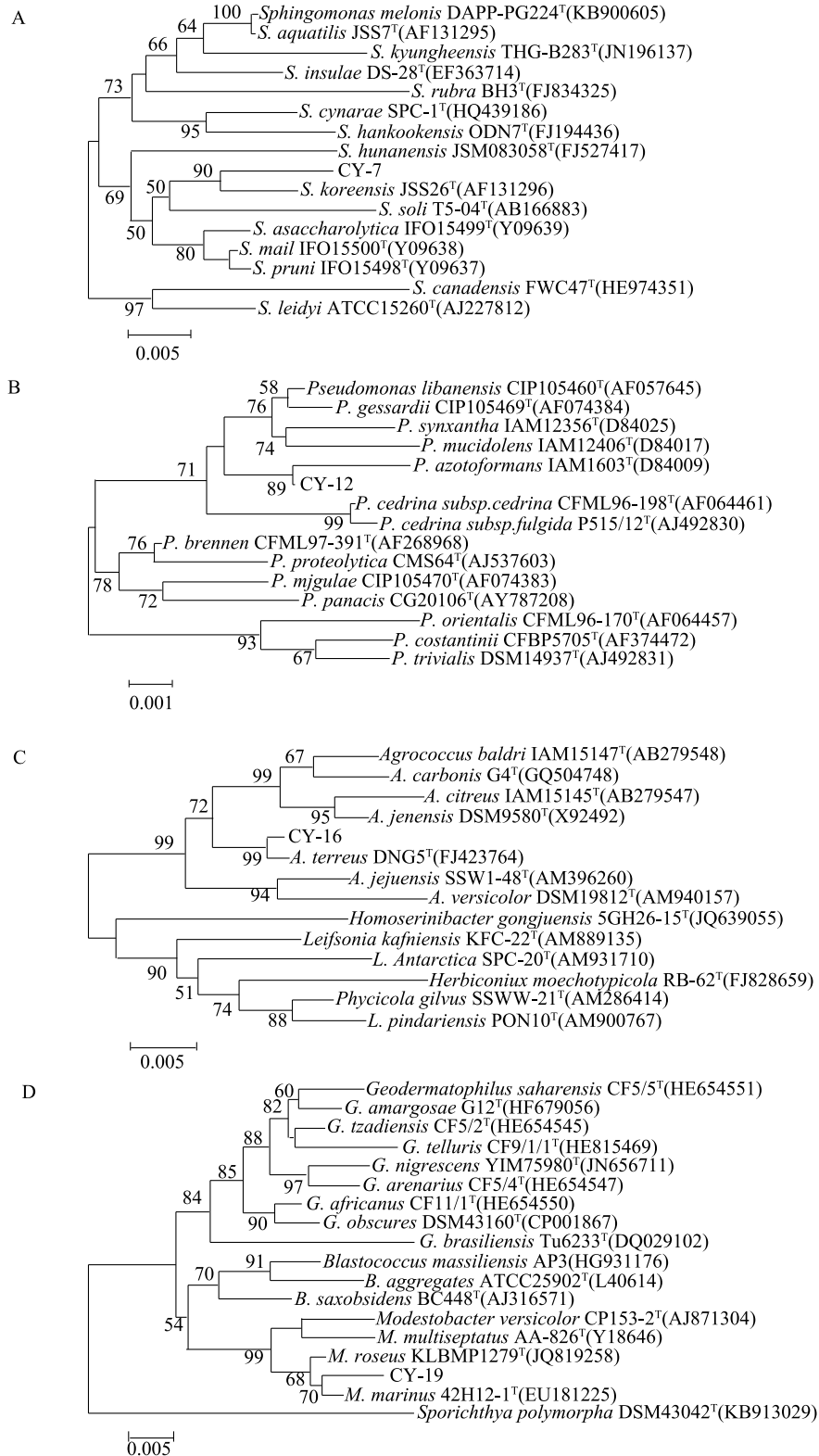
beiensis^[20] 等,本研究首次报道链霉菌 *S. eurocidicus* 对蓝藻有抑制活性。

S. eurocidicus 代谢产物丰富,能够产生多种抗生素,如叔霉素、氮霉素、优洛杀菌素^[37],但尚未有文献报道这些抗生素有抑藻活性。本研究发现,*S. eurocidicus* JXJ 0089 能够分泌多种极性不同的活性成分,抑制铜绿微囊藻生长,其中水溶性成分主要是氨基类化合物。链霉菌产生的含氨基的抑藻物质有蛋白质^[36] 和赖氨酸^[14],另外,含有赖氨酸的多肽往往也具有抑藻活性^[38]。TLC 分析和茚三酮显色结果说明,*S. eurocidicus* JXJ 0089 产生的水溶性氨基类化合物极性比赖氨酸小,显色也不同,因此应该是其他含氨基的化合物。

放线菌的孢子在无细菌铜绿微囊藻藻液中不能萌发生长,但并未死亡,其菌丝体在无细菌藻液中也能存活,这说明藻细胞或其产生的藻毒素等代谢产物,虽然对放线菌具有一定的抑制作用,尤其是抑制其孢子萌发,但对放线菌的孢子或菌丝体均没有明显的致死作用。

蓝藻附生细菌对蓝藻的生长有重要影响,它们的生理活动或部分代谢产物对藻细胞的生长有促进作用^[39]。我们发现,在藻细胞起始浓度相同 (5×10^6 CFU/ml) 的情况下,有细菌藻生长速率显著高于无细菌藻,8 d 后叶绿素 a 含量达到 (1.111 ± 0.042) mg/L,比无细菌藻 (0.688 ± 0.051) mg/L 高 ($P < 0.01$),这可能是附生细菌通过其生理代谢活动,降低了对藻细胞有害物质的浓度,改善了藻细胞的生长环境,或者为藻细胞提供了一些生长所需要的营养成分,从而促进了藻细胞的生长,这应该是 *S. eurocidicus* JXJ 0089 菌丝体对无细菌藻的抑藻效率显著高于有细菌藻的重要原因之一。

微囊藻附生细菌包括 α -Proteobacteria、 γ -Proteobacteria、Actinobacteria 和 Bacteroidetes 等,其中 α -Proteobacteria、 γ -Proteobacteria 是其主要类群^[40-44]。从 *M. aeruginosa* FACHB-905 藻液中分离的 4 株对 *S. eurocidicus* JXJ 0089 有抑制作用的细菌,其中 CY-7 属于 α -Proteobacteria 的鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*),CY-12 属于 γ -Proteobacteria 的假单胞菌属 (*Pseudomonas*),而 CY-16 和 CY-19 分别属于 Actinobacteria 的土壤球菌属 (*Agrococcus*) 和贫养杆菌属 (*Modestobacter*),*Sphingomonas* 和 *Pseudomonas* 是目前研究最多的两类微囊藻附生细菌。微



≥50% 的步长值(以重复 1 000 次的百分率表示)在节点处标注;标尺:0.5% 的序列分歧度。

图 5 铜绿微囊藻附生细菌及相关种以邻接法构建的 16S rRNA 基因系统进化树

Fig. 5 Phylogenetic tree of attached bacteria species of *M. aeruginosa* based on 16S rRNA gene sequences by neighbor-joining

囊藻的存在有利于附生细菌的生存,增强了细菌吸附有机物等各种营养物质的能力,为细菌提供了有机碳源和更为安全的生长环境^[39]。因此,附生细菌可能会抑制一些对藻细胞有害的微生物,降解其抑藻物质,保护藻细胞,以达到维护自身良好生存环境条件的目的,这可能是 *S. eurocidicus* JXJ 0089 菌丝体对无细菌藻的抑藻效率显著高于有细菌藻的另一个重要原因。这些研究结果表明,利用抑藻微生物防治蓝藻水华,必须充分考虑藻细胞的附生细菌在其中的作用。

参考文献:

- [1] CHEN W M, SHEU F S, SHEU S Y. Novel L-amino acid oxidase with algicidal activity against toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* synthesized by a bacterium *Aquimarina* sp. [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2011, 49(4): 372-379.
- [2] DAGNINO D, DE ABREU MEIRELES D, DE AQUINO ALMEIDA J C. Growth of nutrient-replete *Microcystis* PCC 7806 cultures is inhibited by an extracellular signal produced by chlorotic cultures [J]. Environmental Microbiology, 2006, 8(1): 30-36.
- [3] GUO L. Doing battle with the green monster of Taihu Lake [J]. Science, 2007, 317(5842): 1166.
- [4] WU X G, JOYCE E M, MASON T J. The effects of ultrasound on cyanobacteria [J]. Harmful Algae, 2011, 10(6): 738-743.
- [5] AZEVEDO S M, CARMICHAEL W W, JOCHIMSEN E M, et al. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil [J]. Toxicology, 2002, 181-182: 441-446.
- [6] MIZUNO C S, SCHRADER K K, RIMANDO A M. Algicidal activity of stilbene analogues [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(19): 9140-9145.
- [7] SCHRADER K K, NANAYAKKARA N P, TUCKER C S, et al. Novel derivatives of 9, 10-anthraquinone are selective algicides against the musty-odor cyanobacterium *Oscillatoria perornata* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(9): 5319-5327.
- [8] DAVIS T W, BERRY D L, BOYER G L, et al. The effects of temperature and nutrients on the growth a dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacterial blooms [J]. Harmful Algae, 2009, 8(5): 715-725.
- [9] JANČULA D, DRÁBKOVÁ M, ČERNÝ J, et al. Algicidal activity of phthalocyanines-screening of 31 compounds [J]. Environmental Toxicology, 2008, 23(2): 218-223.
- [10] 刘恩生. 生物操纵与非经典生物操纵的应用分析及对策探讨 [J]. 湖泊科学, 2010, 22(3): 307-314.
- [11] PAN G, ZHANG M M, CHEN H, et al. Removal of cyanobacterial blooms in Taihu Lake using local soils. I. Equilibrium and kinetic screening on the flocculation of *Microcystis aeruginosa* using commercially available clays and minerals [J]. Environmental Pollution, 2006, 141(2): 195-200.
- [12] XU Y F, YANG J, WANG Y L, et al. The effects of jet cavitation on the growth of *Microcystis Aeruginosa* [J]. Journal of Environmental Science and Health, Part A, 2006, 41(10): 2345-2358.
- [13] YAN R, WU Y H, JI H L, et al. The decoction of *Radix astragali* inhibits the growth of *Microcystis aeruginosa* [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2011, 74(4): 1006-1010.
- [14] YAMAMOTO Y, KOUCHIWA T, HODOKI Y. Distribution and identification of actinomycetes lysing cyanobacteria in a eutrophic lake [J]. Journal of Applied Phycology, 1998, 10(4): 391-397.
- [15] KUMAR H D. Streptomycin and penicillin-induced inhibition of growth and pigment production in blue-green algae and production of strains of *Anacystis nidulana* resistant to these antibiotics [J]. Journal of Experimental Botany, 1964, 15(2): 232-250.
- [16] QIAN H, LI J J, PAN X J, et al. Effects of streptomycin on growth of algae *Chlorella vulgaris* and *Microcystis aeruginosa* [J]. Environmental Toxicology, 2012, 27(4): 229-237.
- [17] EI-SHERBINY S A, GHALY M F, EI-AYOTY Y M, et al. Niro-mycin A: an antialgal substance produced by *Streptomyces endus* N40 [J]. Research Journal of Microbiology, 2007, 2(8): 606-618.
- [18] EI-SHERBINY S A, EI-AYOTY Y M, GHALY M F, et al. Evaluation for the production of antialgal substance from *Streptomyces neyagawaensis* [J]. Biotechnology, 2009, 8(4): 405-415.
- [19] SCHRADER K K, RIMANDO A M, DUKE S O. Natural compounds for the management of undesirable freshwater phytoplankton blooms [J]. Studies in Natural Products Chemistry, 2002, 26: 351-389.
- [20] FENG Y, CHANG X X, ZHAO L X, et al. Nanaomycin a methyl ester, an actinomycete metabolite: algicidal activity and the physiological response of *Microcystis aeruginosa* [J]. Ecological Engineering, 2013, 53: 306-312.
- [21] LUO J F, WANG Y, TANG S S, et al. Isolation and identification of algicidal compound from *Streptomyces* and algicidal mechanism to *Microcystis aeruginosa* [J]. Plos One, 2013, 8(10): 1-14.
- [22] HEHMANN A, KAYA K, WATANABE M M. Selective control of *Microcystis* using an amino acid—a laboratory assay [J]. Journal of Applied Phycology, 2002, 14(2): 85-89.
- [23] PARK M H, CHUNG I M, AHMAD A, et al. Growth inhibition of unicellular and colonial *Microcystis* strains (*Cyanophyceae*) by compounds isolated from rice (*Oryza sativa*) hulls [J]. Aquatic Botany, 2009, 90(4): 309-314.
- [24] GUMBO J R, CLOETE T E, VAN ZYL G J J, et al. The viability assessment of *Microcystis aeruginosa* cells after co-culturing with *Bacillus mycoides* B16 using flow cytometry [J]. Physics and Chemistry of the Earth, 2014, 72-75: 24-33.
- [25] DAWSON R M. The toxicology of microcystins [J]. Toxicon, 1998, 36(7): 953-962.
- [26] 余甜甜, 张炳火, 李汉全, 等. 一株放线菌对铜绿微囊藻的抑藻活性 [J]. 生态与农村环境学报, 2011, 27(2): 58-63.

- [27] 徐丽华,李文均,刘志恒,等. 放线菌系统学-原理、方法及实践 [M]. 北京:科学出版社, 2007.
- [28] 陈宇炜,陈开宁,胡耀辉. 浮游植物叶绿素 a 测定的“热乙醇法”及其测定误差的探讨 [J]. 湖泊科学, 2006, 18(5): 550-552.
- [29] 张炳火,张玉琴,李汉全,等. 链霉菌 JXJ-402 产生的抗生素 JXJ-402-1 的研究 [J]. 中国抗生素杂志, 2007, 32(5): 280-281, 299.
- [30] HATANO K, NISHII T, KASAI H. Taxonomic re-evaluation of whorl-forming *Streptomyces* (formerly *Streptoverticillium*) species by using phenotypes, DNA-DNA hybridization and sequences of *gyrB*, and proposal of *Streptomyces luteireticuli* (ex Katoh and Arai 1957) corrig., sp. nov., nom. Rev [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2003, 53(5): 1519-1529.
- [31] SAFFERMAN R S, MORRIS M. Evaluation of natural products for algicidal properties [J]. Applied Microbiology, 1962, 10: 289-292.
- [32] WHYTE L G, MAULE A, CULLIMORE D. Method for isolating cyanobacterial-lysing Streptomycetes from soil [J]. J Appl Bacteriol, 1985, 58: 195-197.
- [33] ZHANG B H, CHENG J, LI L, et al. *Streptomyces jiujiangensis* sp. nov., isolated from soil in South China [J]. Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology, 2014, 105(4): 763-770.
- [34] ZHANG B H, CHENG J, CHEN W, et al. *Streptomyces lushanensis* sp. nov., a novel actinomycete with anti-cyanobacterial activity [J]. The Journal of Antibiotics, 2015, 68(1): 5-8.
- [35] SIGEE D C, GLENN R, ANDREWS M J, et al. Biological control of cyanobacteria: principles and possibilities [J]. Hydrobiologia, 1999, 395-396: 161-172.
- [36] CHOI H J, KIM B H, KIM J D, et al. *Streptomyces neyagawaensis* as a control for the hazardous biomass of *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria) in eutrophic freshwaters [J]. Biological Control, 2005, 33(3): 335-343.
- [37] OSATO T, UEDA M, FUKUYAMA S, et al. Production of tertiomycin (a new antibiotic substance), azomycin and eurocidin by *S. eurocidicus* [J]. The Journal of Antibiotics, 1955, 8(4): 105-109.
- [38] TAKAMURA Y, YAMADA T, KIMOTO A, et al. Growth inhibition of *Microcystis* cyanobacteria by L-lysine and disappearance of natural *Microcystis* blooms with spraying [J]. Microbes and Environments, 2004, 19(1): 31-39.
- [39] 杨柳燕,肖琳. 湖泊蓝藻水华爆发、危害与控制 [M]. 北京:科学出版社, 2011.
- [40] 董娟,何晓红,李大平,等. 太湖梅梁湾附生细菌和游离细菌群落结构分析 [J]. 应用与环境生物学报, 2011, 17(1): 104-108.
- [41] SHI L M, CAI Y F, KONG F X, et al. Specific association between bacteria and buoyant *Microcystis* colonies compared with other bulk bacterial communities in the eutrophic Lake Taihu, China [J]. Environmental Microbiology Reports, 2012, 4(6): 669-678.
- [42] SHI L M, CAI Y F, YANG H L, et al. Phylogenetic diversity and specificity of bacteria associated with *Microcystis aeruginosa* and other cyanobacteria [J]. Journal of Environmental Sciences, 2009, 21(11): 1581-1590.
- [43] DZIALLAS C, GROSSART H P. Temperature and biotic factors influence bacterial communities associated with the cyanobacterium *Microcystis* sp [J]. Environmental Microbiology, 2011, 13(3): 1632-1641.
- [44] PARVEEN B, RAVET V, DJEDIAT C, et al. Bacterial communities associated with *Microcystis* colonies differ from free-living communities living in the same ecosystem [J]. Environmental Microbiology Reports, 2013, 5(5): 716-724.

(责任编辑:陈海霞)