群体感应对藻际细菌 *Sulfitobacter pseudonitzschiae* H46 生理活性调控的研究

迟旭辉[1], 杨 淋[1], 张彦超[1], 胡天翼[1], 王 帅[1], 郑 立[1,2*]

（1. 自然资源部第一海洋研究所青岛市现代分析与近海生态环境安全保障重点实验室，山东 青岛 266061；
2. 崂山实验室海洋生态与环境科学功能实验室，山东 青岛 266237）

摘 要：针对海洋细菌群体感应调控功能的热点问题，研究了藻际细菌 *Sulfitobacter pseudonitzschiae* H46 的群体感应系统对菌株 H46 的生态功能和抑藻活性的影响，探讨了基于群体感应介导的藻菌相互作用关系。通过添加不同浓度群体感应抑制剂（β-环糊精），分析了亚硫杆菌 H46 成膜性、DMSP 降解能力、抑藻活性的变化，了解了亚硫杆菌 H46 群体感应系统潜在的调控功能。结果表明，β-环糊精在一定程度上淬灭了亚硫杆菌 H46 的群体感应信号分子 AHLs 的诱导活性，导致亚硫杆菌 H46 的成膜能力、DMSP 降解能力和抑藻活性受到抑制。本文以群体感应调节细菌生态学功能为切入点，探讨了藻际细菌对微藻生长的抑制作用，为藻菌互作机制研究提供新的视角。

关键词：藻菌互作；藻际环境；亚硫杆菌；群体感应；抑藻活性

中图分类号：Q93-3 **文献标志码：**A **文章编号：**1671-6647（2024）04-0738-15

doi: 10.12362/j.issn.1671-6647.20230915001

引用格式： 迟旭辉, 杨淋, 张彦超, 等, 2024. 群体感应对藻际细菌 *Sulfitobacter pseudonitzschiae* H46 生理活性调控的研究[J]. 海洋科学进展, 42(4): 738-752. CHI X H, YANG L, ZHANG Y C, et al, 2024. Study on the biological activities of phycospheric bacterium *Sulfitobacter pseudonitzschiae* H46 regulated by quorum sensing[J]. Advances in Marine Science, 42(4): 738-752.

海洋微藻作为全球碳循环中重要的初级生产者，其种类的变化对海洋生态环境、海区生产力等会产生影响（Falkowski, 1994）。在藻类的生长过程中，藻细胞不断向其周围环境分泌多种代谢产物如脂质、多糖、酶类、氨基酸、维生素、毒素，以及生长抑制和促进因子等（高亚辉, 2001），吸引大量细菌聚集，这些细菌与藻细胞共同构成了相对稳定的藻际环境（Phycosphere）（Zhou et al, 2020）。在藻际环境中，细菌和藻细胞通过营养物质代谢、信息分子交流，实现互利、拮抗等复杂关系。一方面，细菌可以利用微藻的胞外物质生存，并分泌维生素 B12、生长素和吲哚乙酸等代谢产物促进藻细胞生长，实现互惠互利（Wagner-Döbler et al, 2006）。另一方面，部分细菌会分泌溶藻物质使得藻细胞裂解死亡，从而控制微藻生物量（Park et al, 2007）。其中，藻际细菌对微藻生长的抑制是调控微藻群落的重要生态学现象，特别是对一些赤潮微藻，影响着赤潮的生消过程。

研究发现，细菌对微藻的抑制并不是在藻菌共栖期间持续发生的，会受到特定机制的调控

收稿日期：2023-09-15 **网络首发日期：**2024-06-20

资助项目：中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目（2021Q10）；国家自然科学基金项目（41776176 和 4180620）；泰山产业领军人才工程专项经费项目（tscx202306084）；国家留学基金项目（2022）

作者简介：迟旭辉（1996—），女，硕士研究生，主要从事藻菌关系方面研究. E-mail: x.x.x.chi@163.com

***通信作者：**郑 立（1976—），男，研究员，博士，主要从事微生物方面研究. E-mail: zhengli@fio.org.cn

（胡筱敏 编辑）

(Furusawa et al, 2003; Paul et al, 2011; Li et al, 2016)。当细菌对某种藻类具有趋化作用，由于藻类分泌特殊营养物质吸引细菌，使得细菌趋向藻类并附着在表面后，释放抑藻物质裂解藻细胞获取其释放物(Li et al, 2016)。另外，在营养稀缺条件下，细菌可能竞争杀死藻类从而获取藻细胞中丰富的营养物质，此时抑藻物质的产生与环境中PO_4^{3-}、Mg^{2+}呈现负相关(Fursawa et al, 2003)。另外，细菌生长和繁殖的过程中会向外界分泌信号分子——自体诱导物(Autoinducer, AI)(Miller et al, 2001)，随着藻际细菌密度增大，信号分子逐渐增多，当其浓度达到某一阈值时，便可被相应的受体感知，进而启动相关基因的表达，激活相应的代谢通路，调节菌群的生理特性，这种现象被称为群体感应(Quorum Sensing, QS)(Waters et al, 2005)。细菌对微藻的抑制也受到群体感应的调控。细菌的多种功能特性均受 QS 调控，包括生物膜的形成、菌体的运动、毒素的分泌、抗生素以及细菌素的产生等(Papenfort et al, 2016)。在细菌中最为普遍的是由 N-酰基高丝氨酸内酯类(N-acyl-homoserine lactones, AHLs)及其衍生物类信号分子介导的 QS 系统，受到 AHLs 合成酶 LuxI 和转录调控因子 LuxR 两种蛋白调控。多项研究已经证明群体感应是藻类和共栖细菌之间重要的信息交流机制(Tang et al, 2015; Zhou et al, 2016a, 2016b, 2016c)，但是对于抑藻活性而言，却少有发现群体感应系统的调控参与。此前有学者发现赤潮初期抑藻菌虽然增多但并不表现出抑藻活性，只有当细菌生长到一定密度，才会发生抑藻现象进而加速藻类消亡(史顺玉等, 2004; Sohn et al, 2004; Volk, 2005; Paul et al, 2011)。这种依赖一定细菌密度的抑藻活性可能受到 QS 系统调节(李馨子, 2014)。2011 年 Paul 和 Pohnert 发现拟杆菌门细菌 *Kordia algicida* 的抑藻蛋白酶存在群体感应依赖性排泄机制(Paul et al, 2011)，是 QS 调控抑藻活性的一个很好的证据。周文礼等(2011)发现小球藻的共栖菌株 Z-QS01 抑藻物质的分泌存在明显的密度效应，进一步说明 QS 可能调控的溶藻行为。Zhou 等(2016a, 2016b)发现产长链 AHLs 的耐压希瓦氏菌(*Shewanella piezotolerans* 34)的抑藻能力与 AHLs 浓度呈线性关系，且在分泌 C6-AHL 分子的海洋肠杆菌(*Enterobacter* sp. ST3)中也发现了这种抑藻能力和 AHLs 分子的相关性。但关于藻际细菌通过群体感应调控抑藻活性的研究还未见报道。

亚硫杆菌 *Sulfitobacter pseudonitzschiae* 属于 α-变形菌纲中红杆菌目红杆菌科玫瑰杆菌类群 *Rosebacter* 类群，玫瑰杆菌类群是海洋中重要的优势细菌类群，具有许多独特的功能，如较强的成膜性，抑菌和抑藻活性等，还可以降解烃类化合物(Hara et al, 2003; Buchan et al, 2019)和二甲基巯基丙酸内盐(Dimethylsulphioniopropionate, DMSP)(Zeng et al, 2019)。目前，玫瑰杆菌中的亚硫杆菌在研究中被认为是与硅藻互利共生的一种类群(樊乾龙, 2016; 韩光耀等, 2017; Bigalke et al, 2019)，且具有产生吲哚乙酸和降解 DMSP 的功能(韩光耀等, 2017; Bigalke et al, 2019)。通过对藻际细菌多样性研究发现，亚硫杆菌存在于多种海洋微藻藻际环境中(Schäfer et al, 2002; Kaczmarska et al, 2005; Grossart et al, 2005; Sapp et al, 2007a, 2007b, 2007c; Hünken et al, 2008; Hong et al, 2015; Töpel et al, 2019)，但它对不同藻类的作用方式存在差异(Amin et al, 2015)。

我们在前期实验中，从东海原甲藻(甲藻)*Prorocentrum donghaiense* 和赤潮异弯藻(针胞藻) *Heterosigma akashiwo* 的藻际环境中分离得到藻际细菌 *Sulfitobacter pseudonitzschiae* H46，检测发现其存在由 N-酰基高丝氨酸内酯(AHLs)作为信号分子介导的群体感应系统。抑藻活性检测显示出菌株 H46 对甲藻类的塔玛亚历山大藻和针胞藻纲的卡盾藻都具有非常明显的抑制能力，且具有一定的成膜和 DMSP 降解能力(Hu et al, 2021)。但是 H46 的生理活性，特别是抑藻活性与群体感应存在何种关系，群体感应的调控功能是什么尚不清楚。因此，本研究以 *Sulfitobacter pseudonitzschiae* H46 为研究对象，通过群体感应抑制剂 β-环糊精(Ikeda et al, 2002)淬灭 AHLs 信号分子活性，探究群体感应对 H46 的成膜性、DMSP 降解能力及对卡盾藻的抑藻活性的调控作用，进而探讨群体感应在藻菌作用关系中的生态角色，为赤潮的生物防控技术提供一个新的思路。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 所用菌株、藻株

实验所用的 13 株微藻均来自于自然资源部第一海洋研究所藻种库，分别为：常见的绿藻（饵料藻），包括小球藻（*Chlorella vulgaris*）、青岛大扁藻（*Platymonas helgolandica tsingtaoensis*）和盐生杜氏藻（*Dunaliella salina*）；硅藻，包括长菱形藻（*Nitzschia longissima*）、新月菱形藻（*Nitzschia Closterium*）和三角褐指藻（*Phaeodactylum tricornutum*）；常见的赤潮藻，包括利玛原甲藻（*Prorocentrum lima*）、微小原甲藻（*Prorocentrum minimum*）、东海原甲藻（*Prorocentrum donghaiense*）、米氏凯伦藻（*Karenia mikimotoi*）和塔玛亚历山大藻（*Alexandrium tamarense*）五种甲藻，赤潮异弯藻（*Heterosigma akashiwo*）、海洋卡盾藻（*Chattonella marina*）两种针胞藻。

实验所用菌株亚硫杆菌 *Sulfitobacter pseudonitzschiae* H46 为本实验组前期实验所得，筛选自海洋微藻东海原甲藻 *Prorocentrum donghaiense* 和赤潮异弯藻 *Heterosigma akashiwo* 的藻际环境。检测 AHLs 信号分子的指示菌株为根癌农杆菌 *Agrobacterium tumefaciens* KYC55（pJZ372）（pJZ384）（pJZ410），由美国马里兰大学海洋环境与技术研究所 Hill 教授惠赠。

1.1.2 培养基

对 H46 细菌采用 2216E 进行常规培养，利用 DMSP 培养基进行降解实验，并采用 LB 培养基进行 *E. coli* 培养（李馨子, 2014; Hu et al, 2021）。

AT 固体及液体培养基（李馨子, 2014）用于指示菌株 KYC55 的纯化、培养与 AHLs 检测，为避免菌株 KYC55 传代丢失质粒，需在 AT 培养基灭菌后加入抗生素（四环素终浓度为 4.5 μg/mL，庆大霉素终浓度为 50 μg/mL，壮观霉素终浓度为 50 μg/mL），用 0.22 μm 的滤膜过滤备用（Hu et al, 2021）。f/2 培养基用于各类微藻培养（李馨子, 2014; Hu et al, 2021）。

1.2 实验方法

1.2.1 H46 抑藻谱研究

选取 13 种微藻作为抑藻目标藻株。H46 在 30 ℃、150 r/min、2216E 培养 24 h，4 ℃、8 000 r/min 条件下离心 10 min 得到上清，将 H46 上清按终浓度 10%（V/V）添加到对数生长期的藻液中，以 2216E 液体培养基为阴性对照。将灭菌小瓶放置于光照培养箱中，在 20 ℃、光照强度为 76 μmol/（$m^2 \cdot s^{-1}$）、12 h 光照、12 h 黑暗条件下培养 5 d。取样 200 μL 通过酶标仪在 488 nm 激发波长、682 nm 发射波长条件下测量叶绿素 *a* 自发荧光曲线顶点变化，计算获得 H46 菌液上清对藻细胞生长的抑制率 IR（%）：

$$\mathrm{IR} = \frac{I^0 - I}{I^0} \times 100, \tag{1}$$

式中：I^0 为阴性对照组藻液叶绿素 *a* 荧光强度；I 为处理组藻液 H46 上清处理后的叶绿素 *a* 荧光强度。

1.2.2 群体感应信号分子的研究

1）AHLs 信号分子的萃取

将 H46 培养至 OD_{600}=0.7，参考 Hu 等（2021）和 Zhang 等（2022）方法用乙酸乙酯（分析纯）萃取 H46 菌液上清。将乙酸乙酯萃取液按 500∶1 浓缩至乙酸乙酯（含 0.01% 乙酸，V/V）相中，放在−20 ℃冰箱中保存。

2）生物自显影检测群体感应现象

将 0.8% 琼脂培养基高压灭菌后，在超净工作台取 10 mL 铺在无菌培养皿中，待其凝固后吸取

20 μL H46 的乙酸乙酯萃取物滴在琼脂中央。在 55 ℃ 的 AT 固体培养基中，按 1%（V/V）接种 KYC55（Hu et al, 2021; Zhang et al, 2022）。摇匀后倒入 5 mL 接种 KYC55 的 AT 培养基覆盖于上述 0.8% 琼脂培养基上，在 30 ℃ 倒置培养 24 h 后观察变色情况。

3）生物自显影分析 AHLs 种类

将 5 μL 100 μg/mL AHLs 标准品（C6-HSL、C8-HSL、3-oxo-C6-HSL、3-oxo-C8-HSL、3-oxo-C10-HSL）和 10 μL 菌株 H46 的 AHLs 粗提物浓缩液依次在 TTL-DC C18 反相薄层层析色谱板（美国 Merck 公司）上点样，用 60% 的色谱甲醇溶液进行展层。参考 Hu 等（2021）和 Zhang 等（2022）方法观察 TLC 硅胶板上蓝斑的位置和数目，计算比移值（Retention Factor, Rf）并与 AHLs 标准品进行比对（Ibelings et al, 2004），从而确定 H46 细菌产生 AHLs 的种类。

4）GC-MS 分析 AHLs 信号分子的种类

取 50 μL 用 0.22 μm 滤膜过滤后的 H46 菌 AHLs 粗提物浓缩液于气相小瓶中进行 GC-MS 检测，并以 100 μg/mL AHLs 标准品作为阳性对照，使用气相色谱质谱串联方法（Cataldi et al, 2007）对 AHLs 的种类以及含量进行检测。

1.2.3　群体感应抑制剂 β-环糊精对细菌 H46 生长的影响

用 β-环糊精作为群体感应抑制剂，探究 β-环糊精淬灭群体感应之后对 H46 抑藻活性影响，需要先确定 β-环糊精对 H46 的生长是否产生影响。培养 H46 至 OD_{600}=0.7，将活化后的 H46 按 2% 接种于 2216E 培养基，并添加终浓度为 1、3 和 5 mg/mL 的 β-环糊精，培养 54 h。定期取样，测定菌液 OD_{600} 并绘制生长曲线，以此表示细菌的生长情况。

1.2.4　群体感应抑制剂 β-环糊精对 H46 群体感应信号分子 AHLs 的螯合影响

培养 H46 至 OD_{600}=0.7，将活化后的 H46 按 2% 接种于 2216E 培养基，并添加终浓度为 1、3 和 5 mg/mL 的 β-环糊精，培养 24 h。采用乙酸乙酯萃取法（Hu et al, 2021）获得 H46 上清液中的 AHLs 信号分子，采用生物自显影方法（Hu et al, 2021）将与不同浓度 β-环糊精共培养 24 h 后萃取获得的 H46 的乙酸乙酯萃取物吸取 20 μL 依次点在不同 0.8% 琼脂的平板上，覆盖含有 KYC55 的 AT 固体培养基后，在 30 ℃ 倒置培养 24 h 后观察变色情况。测量与不同浓度 β-环糊精共培养后获得的 H46 乙酸乙酯萃取物的显色距离，显色距离为点样处与其正下方距其最远的蓝斑之间的直线距离。

1.2.5　淬灭群体感应对细菌 H46 成膜能力研究

分别取 10 μL 的 H46 菌液（OD_{600}=0.3）和含终浓度为 0、1、3 和 5 mg/mL β-环糊精的 2216E 培养基各 190 μL 加入到 96 孔微量培养板中，在 30 ℃ 静置培养 72 h；采用结晶紫染色实验（Hu et al, 2021）检测 H46 细菌的成膜性能力；用酶标仪测量 OD_{600} 处的吸光值并做记录；以 *E.coli* DH5α 为阴性对照，比较 H46 菌株成膜能力。

1.2.6　淬灭群体感应对细菌 H46 的 DMSP 降解功能研究

将 H46 培养至 $OD_{600=}$0.7，随后在超净台中将 180 μL DMSP 培养基和 20 μL 的 H46 菌液加入到气相小瓶中并添加终浓度为 0、1、3 和 5 mg/mL 的 β-环糊精，立即拧紧瓶盖，在 200 r/min，30 ℃ 避光培养。利用顶空-气相色谱仪检测培养 48 h 后 H46 体系的 DMSP 的含量来反推样品中 DMSP 的降解量（Dacey et al, 1987; Williams et al, 2019）。通过碱解不同浓度梯度的 DMSP 标准溶液，绘制了 DMSP 质量浓度与净峰面积之间关系的标准曲线，其标准曲线的关系为：

$$\sqrt{A} = 199.07\rho + 0.582\,2, \tag{2}$$

式中：A 为净峰面积；ρ 为 DMSP 质量浓度，该曲线 R^2=0.999 2。

1.2.7　淬灭群体感应对 H46 抑藻活性影响

以海洋卡盾藻为抑藻活性检测微藻，向指数生长期的卡盾藻中分别添加 10% 的海水、2216E 培养基（添加与实验组一致浓度的 β-环糊精）和 H46 培养 24 h 离心所得的菌液上清。每天取 1 mL 的藻

液，加入 10 μL 鲁格氏液固定 2 h 后，吸取 100 μL 藻液在浮游植物计数框内，10×20 倍显微镜下进行观察计数。H46 菌液上清对卡盾藻的抑制率用 IR(%)来表示，计算公式如下：

$$\mathrm{IR} = \frac{\rho_0 - \rho}{\rho_0} \times 100, \tag{3}$$

式中：ρ_0 为阴性对照组藻细胞密度；ρ 为 H46 上清处理组藻细胞密度。

2 结果与分析

2.1 菌株 H46 的抑藻谱

通过对菌株 H46 抑藻活性研究，发现菌株 H46 对大多数供试藻株具有一定的抑制作用(图 1)，抑藻率为 17.60%～89.17%。菌株 H46 对黄藻门(Xanthophyta)针胞藻纲的海洋卡盾藻表现出最强的抑藻活性，抑藻率高达 89.16%。菌株 H46 对于甲藻门(Pyrrophyta)的利玛原甲藻、米氏凯轮藻和塔玛亚历山大藻表现出较强的抑藻活性，分别为 34.28%、33.95% 和 25.18%；对硅藻门(Bacillariophyta)的长菱形藻、小新月菱形藻表现出中等的抑制效果，分别为 30.84% 和 17.60%。抑藻结果显示该菌即使对同一门类的微藻，抑制效果也有差异，但对于同属于绿藻门(Chlorophyta)的青岛大扁藻、小球藻和盐生杜氏藻的抑制效果均不明显。

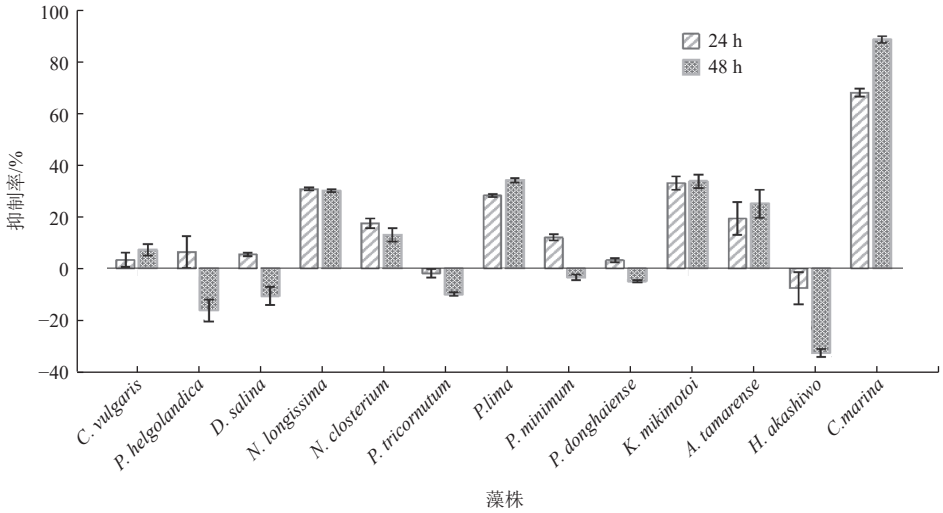
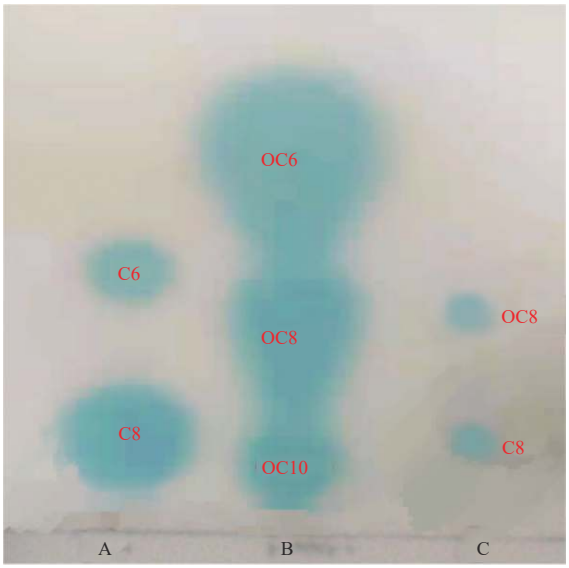


图 1 菌株 H46 抑藻谱的测定

Fig. 1 The Algae suppression spectrum of bacteria strain H46

2.2 H46 菌株群体感应信号分子的分析

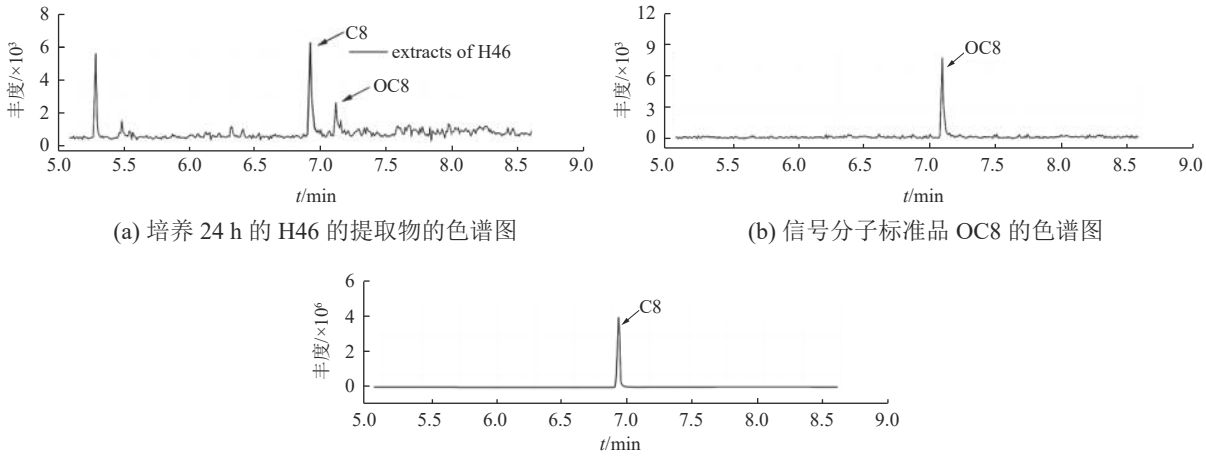
细菌 H46 所产生的信号分子经生物自显影鉴定(图 2)，H46 菌株主要含有 2 种 AHLs 信号分子，其 Rf 值与 3-oxo-C8 和 C8-HSL 两种信号分子的 Rf 值最接近，分别为 0.32 和 0.09，据此结果推测 H46 细菌所产生的信号分子可能为 C8-HSL、3-oxo-C8-HSL。通过 GC-MS 检测方法，选择 m/z 143 作为标记碎片，对 H46 粗提液进行 AHLs 检测(Cataldi et al, 2007; Guo et al, 2011)，得到 H46 的色谱图(图 3a)。与 AHLs 标准品的色谱图(图 3b 和图 3c)比对发现，H46 色谱图(图 3a)中在保留时间为 6.845 min 和 7.075 min 处有峰，能够与 OC8-HSL 和 C8-HSL 比对上。因此，本文进一步明确了 H46 能够产生 C8-HSL、3-oxo-C8-HSL 这 2 种种类的信号分子。



注：A 代表 C-3 非取代类信号分子标准品，B 代表 C-3 氧代类信号分子标准品，C 代表培养 24 h 的 H46 的提取物；C6 代表 C6-HSL，C8 代表 C8-HSL，OC6 代表 3-oxo-C6-HSL，OC8 代表 3-oxo-C8-HSL，OC10 代表 3-oxo-C10-HSL。

图 2　生物自显影检测 AHLs 信号分子种类结果

Fig. 2　Results of AHLs signal molecules types detected by bioautography



(a) 培养 24 h 的 H46 的提取物的色谱图　　(b) 信号分子标准品 OC8 的色谱图

(c) 信号分子标准品 C8的色谱图

注：C8 代表 C8-HSL，OC8 代表 3-oxo-C8-HSL，extracts of H46 代表培养 24 h 的 H46 的提取物。

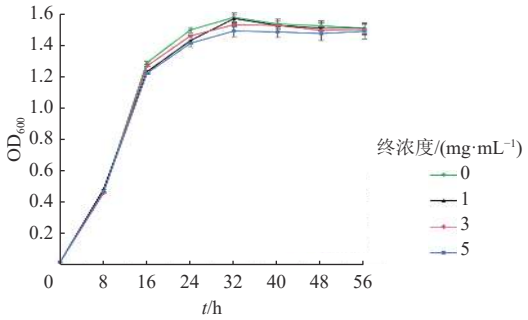
图 3　GC-MS 检测 AHLs 信号分子种类

Fig. 3　AHLs signal molecules types detected by GC-MS

2.3　群体感应抑制剂 β-环糊精对菌株 H46 生长曲线的影响

图 4 为在 2216E 培养基中添加不同终浓度 β-环糊精得到的细菌 H46 的生长曲线，由图 4 可知，培养 4 h 后，H46 进入对数期；培养 32 h 后，H46 进入平台期。培养 0～12 h 期间，H46 生长基本不受 β-环糊精影响。培养 16 h 后，与对照组相比，实验组细菌的生物量未见明显变化（$P>0.05$）。对照组菌最大（OD_{600}=1.581），添加终浓度为 1、3 和 5 mg/mL 的 β-环糊精后，此时 H46 菌最大 OD_{600} 分

别为 1.573、1.550 和 1.506，最大抑制效果仅为 4.74%，可见 β-环糊精对细菌 H46 生长影响不大。因此添加 1、3 和 5 mg/mLβ-环糊精培养得到的 H46 上清，均可进行后续抑藻实验。



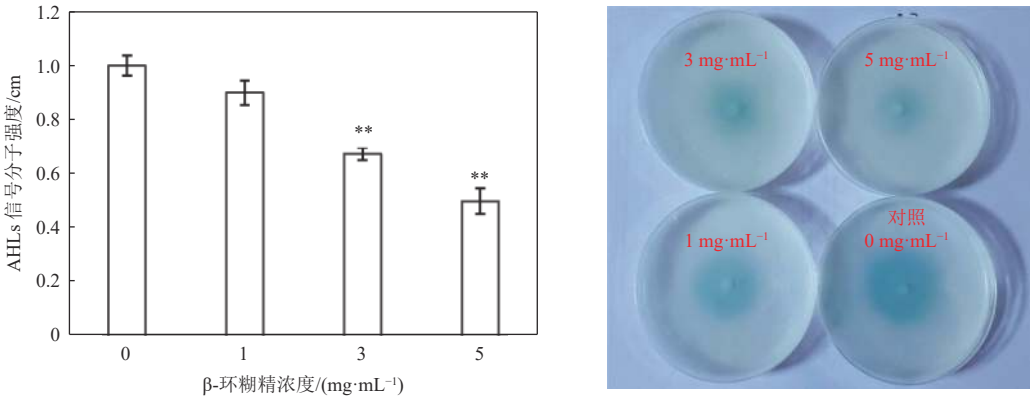
注：细菌细胞浓度在吸光值为 OD_{600} 下测得。

图 4 培养基中添加不同终浓度 β-环糊精情况下细菌 H46 的生长曲线

Fig. 4 Growth curves of bacteria strain H46 under different β-CD concentrations

2.4 群体感应抑制剂 β-环糊精对菌株 H46 群体感应信号分子 AHLs 产生量的影响

生物自显影分析结果（图 5）表明，添加 β-环糊精后，H46 产生 AHLs 的产生量（蓝色显色圈大小）比对照组的明显减少，并且随着 β-环糊精添加浓度增加，细菌 H46 的 AHLs 显色强度逐渐减弱，说明细菌 H46 的 AHLs 的生产积累量受到 β-环糊精抑制。由于菌液加入 β-环糊精后，β-环糊精能够螯合 AHLs 分子，使得培养基中 AHLs 的量大幅度减少，因此推测 β-环糊精对群体感应有一定的抑制作用。



(a) 生物自显影检测 β-环糊精对 H46 的 AHLs 产生量的影响

(b) 生物自显影结果

注：图 a 中**代表 $P<0.01$。

图 5 生物自显影检测 β-环糊精对 H46 分泌 AHLs 的螯合影响

Fig. 5 Chelating effect of β-CD on bacteria strain H46 secreted AHLs detected by bioautography

2.5 群体感应抑制剂 β-环糊精对菌株 H46 生物膜形成能力的影响

本研究采用结晶紫染色法评估不同浓度的 β-环糊精对 H46 群体感应淬灭后其成膜能力的大小。将 H46 与终浓度为 0、1、3 和 5 mg/mLβ-环糊精共培养，细菌的成膜能力变化以结晶紫溶液的 OD_{600}

显示（图 6）。由图 6 可知，H46 生物膜结晶紫实验 OD_{600} 值和群体感应信号分子 AHLs 的强度（图 5）均随 β-环糊精浓度增加呈现明显的下降趋势，二者下降趋势基本一致。且当 β-环糊精终浓度为 5 mg/mL 时，与对照组差异最为显著（$P<0.01$），抑制作用最强，抑制率达到 46.46%。综上可以看出，淬灭群体感应后，H46 的成膜能力受到抑制，且细菌成膜性的抑制和 β-环糊精对 H46 分泌的 AHLs 量淬灭趋势一致，说明细菌 H46 成膜性很有可能受到群体感应信号分子 AHLs 调控。

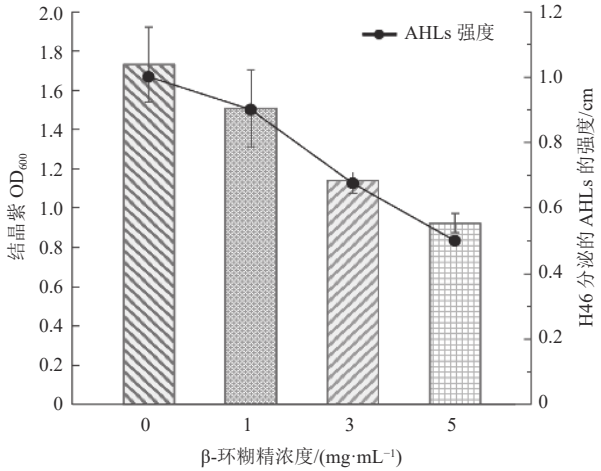
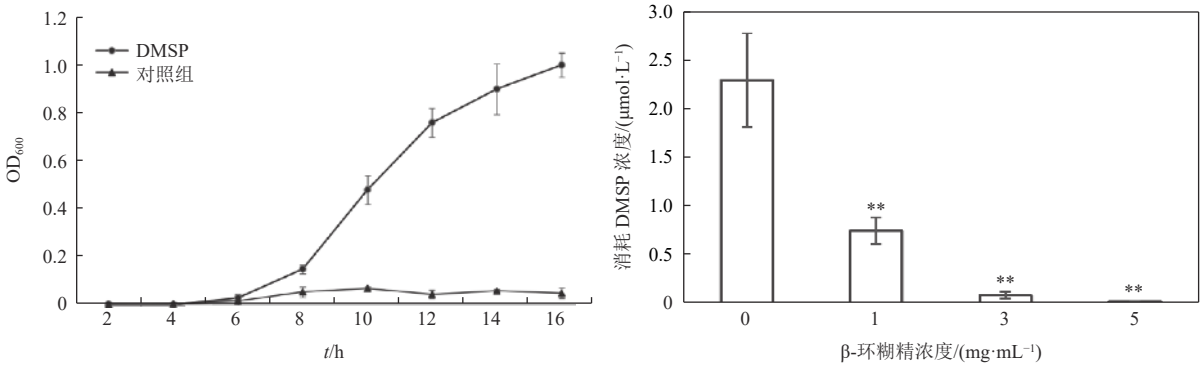


图 6　淬灭群体感应对细菌 H46 成膜能力的影响

Fig. 6　Effect of quenched quorum sensing on biofilm formation of H46

2.6　群体感应抑制剂 β-环糊精对菌株 H46 利用 DMSP 降解能力的影响

根据 DMSP 降解情况（图 7），发现藻际细菌 H46 能够降解 DMSP 并利用 DMSP 为唯一碳源生长。在与终浓度为 0、1、3 和 5 mg/mL 的 β-环糊精共培养 48 h 后，H46 菌株总 DMSP 降解浓度分别为 2.29、0.74、0.08 和 0.02 μmol/L。表明 H46 菌对 DMSP 的降解能力随 β-环糊精浓度增加呈现明显的下降趋势，即 H46 菌的 DMSP 降解能力随群体感应信号分子 AHLs 的淬灭而受到显著抑制，说明 H46 菌的 DMSP 降解能力很有可能受到群体感应信号分子 AHLs 调控。



(a) H46 以 DMSP 为唯一碳源的生长曲线　　(b) 淬灭群体感应对 H46 菌 DMSP 降解能力的影响

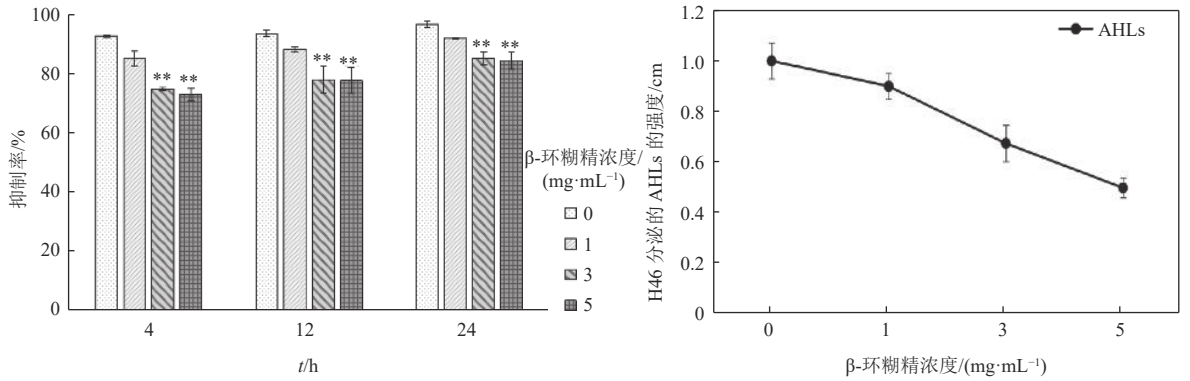
注：**代表 $P<0.01$。

图 7　淬灭群体感应对 H46 菌 DMSP 降解能力的影响

Fig. 7　Effect of quenched quorum sensing on the rate of DMSP consumption by bacteria strain H46

2.7 群体感应抑制剂 β-环糊精对菌株 H46 抑藻活性的影响

由抑藻活性检测结果(图 8)可知，不管是对照组还是添加 β-环糊精培养得到的 H46 上清对海洋卡盾藻均具有明显的抑制作用，随着培养时间增加，各组的抑制作用明显增强，而不同浓度 β-环糊精的对 H46 抑藻活性的影响各异。其中，对照组对海洋卡盾藻抑制效率最高，随着 β-环糊精添加，H46 菌对卡盾藻抑藻活性明显减弱，添加终浓度(5 mg/mL)的 β-环糊精后，H46 抑藻效率与对照组相比降低了 21.56%。因此说明，向 H46 培养基中添加 β-环糊精后，伴随着 H46 菌 AHLs 的生产积累量大幅度减少(图 8b)，H46 的抑藻活性也受到抑制，这些证据显示 H46 的 QS 系统可能参与调控细菌的抑藻活性。



(a) 淬灭群体感应对 H46 卡盾藻抑藻活性的影响 (b) β-环糊精淬灭群体感应后 H46 上清的 AHLs 强度

注：**代表 $P<0.01$。

图 8 淬灭群体感应对 H46 抑卡盾藻活性的影响

Fig. 8 Effect of quenched quorum sensing on the algae suppression activity of bacteria strain H46 against *Chattonellamarina*

3 讨 论

群体感应作为一种常见的基于化学信号的微生物交流系统，依赖信号分子 AHLs 的产生和传递，来实现微生物群体密度依赖性的基因调控，并引起下游基因表达，从而调节许多生物学功能，例如生物膜的形成、毒力因子产生等(Croft et al, 2005; Geng et al, 2010; Albuquerque et al, 2012)。有研究表明，QS 会促进 ATP 的合成，增加胞外聚合物的分泌，改变细胞膜表面特性和细菌的运动，调节生物膜的形成，从而影响细菌与藻类附着共生(Geng et al, 2010)。QS 除了可以调节细菌中一系列代谢过程，还可在许多方面介导微藻和细菌之间的互作，例如营养获取、生态位构建、拮抗和共同进化(Hünken et al, 2008)。一方面，QS 是促进藻类和细菌互利共生的驱动因素，细菌产生的 QS 分子(如 AHLs)对藻类的生长、代谢、孢子繁殖和基因表达具有调节作用(Hu et al, 2021)，例如细菌 QS 系统调节铁载体的产生以促进宿主藻类的生长(Sapp et al, 2007b)；另一方面，藻类可以感知细菌的 QS 信号，并产生 QS 抑制分子来调节细菌群落组成和生态功能，从而选择性地保留对宿主藻类有益的细菌种群(Kaczmaeska et al, 2005; Sapp et al, 2007a, 2007b)。

AHLs 作为细菌和微藻之间的 QS 信号分子之一，具有种类多样性和生态功能多样性(Ziesche et al, 2015; Doberva et al, 2017; Ziesche et al, 2018)。例如，Ziesche 等(2015)在海洋玫瑰杆菌分离株中检测到 19 株不同的产 AHLs 菌株(AHLs 的链长范围为 C10-HSL～C18-HSL)；Stock 等(2019)发现不同

AHLs 发挥了不同的生态作用，C14-AHL 可以促进硅藻 *Seminavis robusta* 生长，OH-C14-AHL 和 oxo-C14-AHL 则对硅藻生长有抑制作用；Stock 等（2019）发现 oxo-C12-AHL 也对三角褐指藻 *Phaeodactylum tricornutum* 的生长产生抑制；Stock 等（2019）和 Gao 等（2020）发现，海水条件下某些 AHLs（如 oxo-C12-AHL、oxo-C5-AHL）会自发地重排形成四聚酸，强烈抑制 *P. tricornutum* 的生长和光合效率。本文作者团队及其他学者对藻际 QS 细菌进行 GC-MS 分析发现，其 AHLs 分子种类大多数是 OC10-HSL、C8-HSL、OC8-HSL，其中多数 QS 细菌表现出成膜、DMSP 降解和抑制藻类生长效应（Decho et al, 2009; Ziesche et al, 2015; Chi et al, 2017; Doberva et al, 2017; Hu et al, 2021; Zhang et al, 2022）。本研究分离出来的 H46 细菌产生 2 类 AHLs：C8-HSL、OC8-HSL，属于中短链 AHLs 分子，比淡水环境中发现的 AHLs 分子（例如 C4-AHL 和 C6-AHL）长，比海洋环境中发现的 AHLs 短（Ziesche et al, 2015; Doberva et al, 2017），但和滨海湿地植物根际细菌产生的 AHLs 长度相似（Stock et al, 2019），这可能是植物细胞共栖细菌特有的 QS 信号分子种类。目前这些 AHLs 具体的生态学功能还有待进一步研究。

β-环糊精作为 QS 淬灭剂，可以抑制 AHLs 分子活性，从而阻止其与受体结合，淬灭下游基因的表达，达到抑制群体感应的作用（He et al, 2015）。Rahman 等（2009）用高剂量的 β-环糊精直接影响费氏弧菌中的 QS 表达，这表明可以利用 β-环糊精淬灭群体感应来研究 QS 的调控功能。后来 Nakashima 等（2005, 2006）添加 β-环糊精与 QS 细菌 *Hahella* sp.共培养后，发现其抑藻色素 Prodigiosin 的产量降低；Chi 等（2017）用 β-环糊精作用于 QS 细菌 *Ponticoccus* sp.后，发现该菌的杀藻活性明显降低，认为细菌的 QS 系统可以调控抑藻活性的产生。本文通过添加 β-环糊精与 H46 共培养来淬灭 QS，经过生物自显影和 GC-MS 检测验证得到，添加 β-环糊精的实验组与未添加 β-环糊精的对照组相比，AHLs 分子的活性检出量明显降低，说明 β-环糊精能抑制 H46 菌株的群体感应；群体感应信号分子淬灭的同时，H46 菌株的成膜能力、DMSP 降解能力和抑藻活性明显减弱，表明这些功能可能受到 QS 的调节。

玫瑰杆菌作为海洋细菌的优势类群，存在大量的抑藻细菌，且这些细菌的 QS 参与调控多种杀藻物质的产生。玫瑰杆菌 *Phaeobacter gallaeciensis* 可以合成抑藻物质 roseobacticides（Seyedsayamdost et al, 2011a, 2011b），玫瑰杆菌 *Phaeobacter gallaeciensis* 可以产生 tropodithietic acid（TDA）抑制硅藻生长（Ziesche et al, 2015），其中 roseobacticides 和 TDA 的合成受 QS 信号分子，特别是 OH-C10-AHL 的调节（Berger et al, 2011; Wang et al, 2016）。Guo 等（2016）通过同源重组证明 *Aeromonas* sp. GLY-2 107 产生的 2 种抑藻物质 3-甲基吲哚和环状二肽环（Gly-Phe）的产生受到 AHLs（C4-HSL）介导的 QS 的调节。但关于藻际分离的 QS 细菌的抑藻效应是否受 QS 的调控还未见报道。因此，本文对 QS 调控藻际细菌 H46 的抑藻活性进行了探究。当 H46 与不同浓度 β-环糊精共培养后，生长曲线未发生明显变化，各组细胞浓度基本一致，说明 β-环糊精对细菌生长没有产生影响。而添加 β-环糊精的实验组与对照组相比，随着胞外 AHLs 积累量的减少（QS 功能淬灭），H46 菌株抑藻活性明显减弱，表明 H46 菌株的抑藻活性受到 QS 系统的调控。这也是首次发现藻际细菌的 QS 可调控抑藻活性的报道，从抑藻的角度证实藻际细菌的 QS 对塑造微藻群落结构具有重要的生态学意义。

研究藻菌之间 QS 通讯对于阐明藻类与其相关细菌的相互作用非常重要，关于 QS 介导的藻菌相互作用的研究很少，尽管本研究得到一些初步的结论，但后期还需要开展 QS 相关基因的敲除和信号分子回补实验，来进一步验证藻际细菌 QS 调控的生态功能。

4　结　论

本文利用 β-环糊精作为抑藻藻际细菌 *Sulfitobacter pseudonitzschiae* H46 的群体感应淬灭剂，通过

分析群体感应淬灭对亚硫杆菌 H46 生理活性的影响，探究了 QS 对藻际细菌 H46 的生态功能及藻菌相互作用关系的调节作用，得到如下结论。

1)藻际细菌 H46 具有较为广泛的抑藻谱，对针胞藻(海洋卡盾藻)表现最强的抑藻活性(89.16%)，但对不同藻种的抑藻效果存在差异。

2)藻际细菌 H46 存在 AHLs 介导的群体感应系统，能够产生 C8-HSL、3-oxo-C8-HSL 两种类型的信号分子。

3)添加 β-环糊精淬灭群体感应系统后，菌株 H46 的成膜能力、DMSP 降解能力和抑藻活性均受到明显抑制，表明以上生理活性受到群体感应调控。

参考文献 (References):

樊乾龙, 2016. 溶解铜绿微囊藻的细菌筛选及溶解效果的研究[D]. 北京: 北京林业大学. FAN Q L, 2016. Study on the isolation and lysing effects of algicidal bacteria to the *Microcystis aeruginosa*[D]. Beijing: Beijing Forestry University.

高亚辉, 2001. 海洋微藻分类生态及生物活性物质研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 40(2): 566-573. GAO Y H, 2001. Studies on taxonomy, ecology and bioactive products of marine microalgae[J]. Journal of Xiamen University (Nature Science), 40(2): 566-572.

韩光耀, 谢丽玲, 毕潇, 等, 2017. 溶藻细菌DH-e代谢产物对东海原甲藻的抑制作用[J]. 应用海洋学学报, 36(2): 151-157. HAN G Y, XIE L L, BI X, et al, 2017. Inhibitory effect of metabolites from algicidal bacterium DH-e on *Prorocentrum donghaiense*[J]. Journal of Applied Oceanography, 36(2): 151-157.

李馨子, 2014. 海洋细菌 PD-2 抑藻活性研究及群体感应基因 *zlb*-I 敲除方法的建立[D]. 青岛: 国家海洋局第一海洋研究所. LI X Z, 2014. Study on algicidal activity of microalgae-associated bacterium *Rhodobacteraceae* PD-2 and gene knockout method of quorum sensing regulating gene *zlb*-I[D]. Qingdao: The First Institute of Oceanography, State Oceanic Administration.

史顺玉, 刘永定, 沈银武, 等, 2004. 细菌DC_{10}的溶藻作用及环境因子对该作用的影响[J]. 中国科学C辑: 生命科学, 34(6): 564-568. SHI S Y, LIU Y D, SHEN Y W, et al, 2004. Alalolytic effect of bacterial DC_{10} and the influence of environmental factors on this effect[J]. Science in China Series C: Life Sciences, 34(6): 564-568.

周文礼, 肖慧, 乔秀亭, 等, 2011. Z-QS01菌株对小球藻的生态学效应及对UV-B辐射的响应[J]. 北京理工大学学报, 31(1): 109-112. ZHOU W L, XIAO H, QIAO X T, et al, 2011. Quorum sensing of an associated heterotrophic bacteria-Z-QS01 with *Chlorella vulgaris* and response to enhanced UV-B radiation[J]. Journal of Beijing Institute of Technology, 31(1): 109-112.

ALBUQUERQUE P, CASADEVALL A, 2012. Quorum sensing in fungi (a review)[J]. Medical Mycology, 50(4): 337-345.

AMIN S A, HMELO L R, VAN TOI H M, et al, 2015. Interaction and signalling between a cosmopolitan phytoplankton and associated bacteria[J]. Nature, 522(7554): 98-101.

BERGER M, NEUMANN A, SCHUIZ S, et al, 2011. Tropodithietic acid production in *Phaeobacter gallaeciensis* is regulated by *N*-acyl homoserine lactone-mediated quorum sensing[J]. Journal of Bacteriology, 193(23): 6576-6585.

BIGALKE A, POHNERT G, 2019. Algicidal bacteria trigger contrasting responses in model diatom communities of different composition[J]. MicrobiologyOpen, 8(8): e00818.

BUCHAN A, GONZÁLEZ J M, CHUA M J, 2019. Taxonomy, genomics and ecophysiology of hydrocarbon-degrading microbes[M]. New York: Springer: 93-104.

CATALDI T R I, BIANCO G, PALAZZO L, et al, 2007. Occurrence of *N*-acyl-L-homoserine lactones in extracts of some Gram-negative bacteria evaluated by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Analytical Biochemistry, 361: 226-235.

CHI W D, ZHENG L, HE C F, et al, 2017. Quorum sensing of microalgae associated marine *Ponticoccus* sp. PD-2 and its algicidal function regulation[J]. AMB Express, (7): 1-10.

CROFT M T, LAWRENCE A D, RAUX-DEERY E, et al, 2005. Algae acquire vitamin B_{12} through a symbiotic relationship with bacteria[J]. Nature, 438: 90-93.

DACEY J W H, BLONGH N V, 1987. Hydroxide decomposition of dimethylsulfoniopropionate to form dimethylsulfide[J]. Geophysical Research Letters, 14(12): 1246-1249.

DECHO A W, VISSCHER P T, FERRY J, et al, 2009. Autoinducers extracted from microbial mats reveal a surprising diversity of *N*-acylhomoserine lactones (AHLs) and abundance changes that may relate to diel pH[J]. Environmental Microbiology, 11(2): 409-420.

DOBERVA M, STIEN D, SORRES J, et al, 2017. Large diversity and original structures of acyl-homoserine lactones in strain MOLA 401, a marine *Rhodobacteraceae* bacterium[J]. Frontiers in Microbiology, 8: 1152.

FALKOWSKI P G, 1994. The role of phytoplankton photosynthesis in global biogeochemical cycles[J]. Photosynthesis Research, 39: 235-258.

FURUSAWA G, YOSHIKAWA T, YASUDA A, et al, 2003. Algicidal activity and gliding motility of *Saprospira* sp. SS98-5[J]. Canadian Journal of Microbiology, 49(2): 92-100.

GAO C, FERNANDEZ V I, LEE K S, et al, 2020. Single-cell bacterial transcription measurements reveal the importance of dimethylsulfoniopropionate (DMSP) hotspots in ocean sulfur cycling[J/OL]. (2020-04-23)[2023-09-15].https://doi.org/10.1038/s41467-020-15693-z.

GENG H, BELAS R, 2010. Molecular mechanisms underlying *Roseobacter*-phytoplankton symbioses[J]. Current Opinion in Biotechnology, 21(3): 332-338.

GROSSART H P, LEVOLD F, ALLGAIER M, et al, 2005. Marine diatom species harbour distinct bacterial communities[J]. Environmental Microbiology, 7(6): 860-873.

GUO X, ZHENG L, ZHOU W, et al, 2011. A case study on chemical defense based on quorum sensing: antibacterial activity of sponge-associated bacterium *Pseudoalteromonas* sp. NJ6-3-1 induced by quorum sensing mechanisms[J]. Annals of Microbiology, 61: 247-255.

GUO X, LIU X, WU L, et al, 2016. The algicidal activity of *Aeromonas* sp. strain GLY-2107 against bloom-forming *Microcystis aeruginosa* is regulated by *N*-acyl homoserine lactone-mediated quorum sensing[J]. Environmental Microbiology, 18(11): 3867-3883.

HARA A, SYUTSUBO K, HARAYAMA S, 2003. *Alcanivorax* which prevails in oil-contaminated seawater exhibits broad substrate specificity for alkane degradation[J]. Environmental Microbiology, 5(9): 746-753.

HE C F, ZHENG L, GAO W, et al, 2022. Diversity and functions of quorum sensing bacteria in the root environment of the *Suaeda glauca* and *Phragmites australis* coastal wetlands[J]. Environmental Science and Pollution Research, 29(36): 54619-54631.

HONG Z, LAI Q L, LUO Q, et al, 2015. *Sulfitobacter pseudonitzschiae* sp. nov., isolated from the toxic marine diatom *Pseudonitzschia multiseries*[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 65(Suppl.1): 95-100.

HU T, WANG S, SHAN Y, et al, 2021. Complete genome of marine microalgae associated algicidal bacterium *Sulfitobacter pseudonitzschiae* H46 with quorum sensing system[J]. Current Microbiology, 78(10): 3741-3750.

HÜNKEN M, HARDER J, KIRST G O, 2008. Epiphytic bacteria on the Antarctic ice diatom *Amphiprora kufferathii* Manguin cleave hydrogen peroxide produced during algal photosynthesis[J]. Plant Biology, 10(4): 519-526.

IBELINGS B W, DE BRUIN A, KAGAMI M, et al, 2004. Host parasite interactions between freshwater phytoplankton and chytrid fungi (*Chytridiomycota*)[J]. Journal of Phycology, 40(3): 437-453.

IKEDA T, INOUE Y, SUEHIRO A, et al, 2002. The effects of cyclodextrins on autoinducer activities of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 44: 381-382.

KACZMARSKA I, EHRMAN J M, BATES S S, et al, 2005. Diversity and distribution of epibiotic bacteria on *Pseudonitzschia multiseries* (Bacillariophyceae) in culture, and comparison with those on diatoms in native seawater[J]. Harmful Algae, 4(4): 725-741.

LI Y, LEI X Q, ZHU H, et al, 2016. Chitinase producing bacteria with direct algicidal activity on marine diatoms[J]. Scientific Reports, 6: 21984.

MILLER M B, BASSLER B L, 2001. Quorum sensing in bacteria[J]. Annual Reviews in Microbiology, 55(1): 165-199.

NAKASHIMA T, KURACHI M, KATO Y, et al, 2005. Characterization of bacterium isolated from the sediment at coastal area of Omura Bay in Japan and several biological activities of pigment produced by this isolate[J]. Microbiology and Immunology, 49(5): 407-415.

NAKASHIMA T, MIYAZAKI Y, MATSUYAMA Y, et al, 2006. Producing mechanism of an algicidal compound against red tide phytoplankton in a marine bacterium γ-*proteobacterium*[J]. Applied microbiology and Biotechnology, 73: 684-690.

PAPENFORT K, BASSLER B L, 2016. Quorum sensing signal−response systems in Gram-negative bacteria[J]. Nature Reviews Microbiology, 14(9): 576-588.

PARK J R, BAE J W, NAM Y D, et al, 2007. *Sulfitobacter litoralis* sp. nov., a marine bacterium isolated from the East Sea, Korea[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 57(4): 692-695.

PAUL C, POHNERT G, 2011. Interactions of the algicidal bacterium *Kordia algicida* with diatoms: regulated protease excretion for specific algal lysis[J]. PloS One, 6(6): e21032.

RAHMAN I A, VEJAYAKUMARAN P, SIPAUT C S, et al, 2009. Size-dependent physicochemical and optical properties of silica nanoparticles[J]. Materials Chemistry and Physics, 114(1): 328-332.

SAPP M, SCHWADERER A S, WILTSHIRE K H, et al, 2007a. Species-specific bacterial communities in the phycosphere of microalgae?[J]. Microbial Ecology, 53: 683-699.

SAPP M, WICHELS A, GERDTS G, 2007b. Impacts of cultivation of marine diatoms on the associated bacterial community[J]. Applied and Environmental Microbiology, 73(9): 3117-3120.

SAPP M, WICHELS A, WILTSHIRE K H, et al, 2007c. Bacterial community dynamics during the winter−spring transition in the North Sea[J]. Fems Microbiology Ecology, 59(3): 622-637.

SCHÄFER H, BEN A, HARRY W, et al, 2002. Genetic diversity of ‘satellite’ bacteria present in cultures of marine diatoms[J]. Fems Microbiology Ecology, 42(1): 25-35.

SEYEDSAYAMDOST M R, CARR G, KOLTER R, et al, 2011a. Roseobacticides: small molecule modulators of an algal-bacterial symbiosis[J]. Journal of the American Chemical Society, 133(45): 18343-18349.

SEYEDSAYAMDOST M R, CASE R J, KOLTER R, et al, 2011b. The Jekyll-and-Hyde chemistry of *Phaeobacter gallaeciensis*[J]. Nature Chemistry, 3(4): 331-335.

SOHN J H, LEE J H, YI H, et al, 2004. *Kordia algicida* gen. nov., sp. nov., an algicidal bacterium isolated from red tide[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 54(3): 675-680.

STOCK F, SYRPAS M, CREVELD S G V, et al, 2019. *N*-acyl homoserine lactone derived tetramic acids impair photosynthesis in *Phaeodactylum tricornutum*[J]. ACS Chemical Biology, 14(2): 198-203.

TANG K, SU Y, BRACKMAN G, et al, 2015. MomL, a novel marine-derived *N*-acyl homoserine lactonase from *Muricauda olearia*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 81(2): 774-782.

TÖPEL M, PINDER M I M, JOHANSSON O N, et al, 2019. Complete genome sequence of novel *Sulfitobacter pseudonitzschiae* Strain SMR1, isolated from a culture of the marine diatom *Skeletonema marinoi*[J]. Journal of Genomics, 7: 7-10.

VOLK R B, 2005. Screening of microalgal culture media for the presence of algicidal compounds and isolation and identification of two bioactive metabolites, excreted by the cyanobacteria *Nostoc insulare* and *Nodularia harveyana*[J]. Journal of Applied Phycology, 17: 339-347.

WAGNER-DÖBLER I, BIEBL H, 2006. Environmental biology of the marine *Roseobacter* lineage[J]. Annual Review of Biochemistry, 60: 255-280.

WANG R, GALLANT É, SEYEDSAYAMDOST M R, 2016. Investigation of the genetics and biochemistry of roseobacti-

cide production in the *Roseobacter* clade bacterium *Phaeobacter* inhibens[J]. Microbiology, 7(2): e02118. DOI: 10.1128/MBio. 02118-15.

WATERS C M, BASSLER B L, 2005. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria[J]. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 21: 319-346.

WILLIAMS B T, COWLES K, BERMEJO MARTÍNEZ A, et al. Bacteria are important dimethylsulfoniopropionate producers in coastal sediments[J]. Nature Microbiology, 2019, 4(11): 1815-1825.

ZENG Y X, QIAO Z Y, 2019. Diversity of dimethylsulfoniopropionate degradation genes reveals the significance of marine *Roseobacter* clade in sulfur metabolism in coastal areas of Antarctic Maxwell Bay[J]. Current Microbiology, 76: 967-974.

ZHANG Y, ZHENG L, WANG S, et al, 2021. Quorum sensing bacteria in the phycosphere of HAB microalgae and their ecological functions related to cross-kingdom interactions[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 19(1): 163.

ZHOU J, LAO Y M, CAI Z H, 2016a. Draft genome sequence of *Providencia sneebia* strain ST1, a quorum sensing bacterium associated with marine microalgae[J]. Journal of Genomics, 4: 10-12.

ZHOU J, LAO Y M, MA Z P, et al, 2016b. Genome sequence of *Enterobacter* sp. ST3, a quorum sensing bacterium associated with marine dinoflagellate[J]. Genomics Data, 7: 195-199.

ZHOU J, LYU Y, RICHLEN M L, et al, 2016c. Quorum sensing is a language of chemical signals and plays an ecological role in algal-bacterial interactions[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 35(2): 81-105.

ZHOU J, LAO Y, SONG J, et al, 2020. Temporal heterogeneity of microbial communities and metabolic activities during a natural algal bloom[J]. Water Research, 183: 116020.

ZIESCHE L, BRUNS H, DOGS M, et al, 2015. Homoserine lactones, methyl oligohydroxybutyrates, and other extracellular metabolites of macroalgae-associated bacteria of the *Roseobacter* clade: identification and functions[J]. Chembiochem:a European Journal of Chemical Biology, 16(14): 2094-2107.

ZIESCHE L, WOLTER L, WANG H, et al, 2018. An unprecedented medium-chain diunsaturated *N*-acyl homoserine lactone from marine *Roseobacter* group bacteria[J]. Marine Drugs, 17(1): 20.

Study on the Biological Activities of Phycospheric Bacterium *Sulfitobacter Pseudonitzschiae* H46 Regulated by Quorum Sensing

CHI Xuhui[1], YANG Lin[1], ZHANG Yanchao[1], HU Tianyi[1], WANG Shuai[1], ZHENG Li[1,2]

（1. *Qingdao Key Laboratory of Analytical Technology Development and Offshore Eco-Environment Conservation, First Institute of Oceanography*, *MNR*, Qingdao 266061, China；
2. *Laboratory for Marine Ecology and Environmental Science*, *Laoshan Laboratory*, Qingdao 266237, China）

Abstract: This paper focused on the hot issue of quorum sensing regulatory function of marine bacteria. The influence of the quorum sensing system of the phycospheric *Sulfitobacter pseudonitzschiae* H46 on its ecological function and algae inhibition was studied and algal-bacterial interaction modulated by quorum sensing was explored. H46 was co-cultured with different concentrations of quorum sensing inhibitor (β-cyclodextrin). Then the functions of biofilm formation, DMSP degradation and algicidal activity of H46 were analyzed. And the potential regulation function of H46 quorum sensing system was confirmed. The results showed that the induced activity of the quorum sensing signaling molecule AHLs of H46 was partially quenched by β-CD. And then the biological ability of membrane forming, DMSP degradation and alga-inhibit of H46 were inhibited. In this paper, we explore the inhibitory effect of bacteria on the growth of microalgae, which provides a new perspective for the study of mechanism of algal-bacterial interaction.

Keywords: algae-bacterial interaction；phycosphere；*Sulfitobacter*；quorum sensing；algicidal activity

Received: September 15, 2023 **Online:** June 20, 2024