

溶藻细菌 DC-L5 的分离、鉴定及其溶藻特性

卢兰兰^{1,2} 李根保¹ 沈银武¹ 胡明明^{1,2} 刘永定¹

(1. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要:从滇池蓝藻水华集聚区分离获得一株溶藻细菌 DC-L5, 通过形态及 16S rDNA 测序分析鉴定为短小芽孢杆菌。用小白鼠进行生物安全实验, 小白鼠无中毒症状。研究表明当细菌处于对数生长期时溶藻效果最强, 共培养 5d 使铜锈微囊藻的叶绿素 *a* 含量下降 83.33%, 使惠氏微囊藻、绿色微囊藻、水华束丝藻和水华鱼腥藻 4 种蓝藻叶绿素 *a* 下降率最高为 67.6%, 最低为 58.5%, 平均为 62.25%。离心沉降后, 发现沉淀菌体和无菌上清液对铜锈微囊藻都有溶藻效果, 但溶藻效果不及原菌液, 推测 DC-L5 可能是通过直接接触使藻细胞凝聚下沉及进一步的生物降解, 同时存在抑制藻细胞生长的胞外分泌物。经高温处理后菌液溶藻作用不明显, 推测高温可能使菌体或胞外分泌物失活。

关键词:溶藻细菌; 生物控藻; 芽孢杆菌; 蓝藻水华; 微囊藻

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2009)05-0860-06

蓝藻水华暴发时, 大量的蓝藻漂浮在水面, 降低水体的透明度和溶解氧含量。其中某些蓝藻会产生藻毒素, 危害生态系统安全^[1,2]和人体健康^[3]。细菌对有害藻类的溶解作用为生物控藻提供了新的可能性。溶藻细菌对藻细胞作用的可能方式和机理主要有以下 5 种: 直接接触溶藻、释放杀藻物质、与藻竞争营养物、形成菌胶膜及进入藻细胞内杀灭藻细胞^[4]。溶藻细菌一般从湖泊水体直接分离, 具有很好的生态安全性, 尤其适合在水华发生初期使用, 在短期内即可控制藻类生物量或阻止藻类大量增殖, 势必成为水华生物防治的一个重要手段^[5]。近年来, 国内外文献中陆续有一些溶藻细菌的相关报道, 主要有: 从日本海域分离出的具有溶藻效应的黄杆菌属, 从武汉市的 4 个池塘分离出的分别属于葡萄球菌属、芽孢杆菌属、节杆菌属以及欧文菌的溶藻细菌, 从海绵固定化微生物系统中分离得到的具有良好溶藻效应的红球菌^[6]。溶藻细菌的研究已成为一个富有挑战性的课题。

滇池是我国著名的高原淡水湖泊, 自 20 世纪 90 年代以来, 滇池蓝藻水华发生的频率和程度都很严重^[7]。从滇池分离溶藻细菌的工作本实验室一直在进行^[8-12], 并希望建立起滇池溶藻细菌库, 为

生物控藻提供技术和资料储备。本实验室已经从滇池分离出 4 株溶藻细菌^[9-12], 笔者又从滇池分离到两株溶藻细菌, 本文研究其中一株细菌 DC-L5, 以期利用溶藻细菌控制蓝藻水华提供理论和技术依据。

1 材料与方法

1.1 藻种及自然藻华的来源及培养 实验藻种采用从滇池水体分离纯化的铜锈微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*, FACHB 905)、绿色微囊藻 (*Microcystis viridis*, FACHB 102)、惠氏微囊藻 (*Microcystis wesenbergii*, FACHB 107)、水华束丝藻 (*Aphanizomenon flos-aquae* (L.) Ralfs.) 和水华鱼腥藻 (*Anabaena flos-aquae* (Lyngb.) Breb.)。前 3 种由中国科学院水生生物研究所藻种保藏中心 (FACHB) 提供, 后两种由本实验室分离鉴定并保种^[13,14]。水华鱼腥藻用 1/3 BG₁₁ 液体培养基, 其他藻种均用 BG₁₁ 液体培养基, 培养温度为 25℃, 光照强度为 150 μmol photons/m² · s, 光暗周期为 16h 8h。自然藻华采自滇池, 取蓝藻聚集区 0.5m 处水样, 此水样藻细胞含量约为 1.2 × 10⁷ cells/mL, 带回实验室分装于 500 mL 烧杯内, 培养温度和光照条件同藻种。

收稿日期: 2008-01-24; 修订日期: 2008-10-29

基金项目: 863 课题 (编号: 2005AA60101504); 973 项目 (编号: 2002CB412300) 资助

作者简介: 卢兰兰 (1982—), 女, 湖北钟祥人; 硕士; 主要研究方向为藻类环境生物学。E-mail: fengzhenglanlan@163.com

通讯作者: 刘永定, E-mail: Liuyd@ihb.ac.cn

1.2 细菌培养基 细菌增殖用肉汤培养基,分离、纯化和保种用牛肉膏固体培养基^[15]。

1.3 溶藻细菌的分离与鉴定 从滇池蓝藻水华集聚区采集水样,将采集的水样通过 0.8 μm 的醋酸纤维滤膜(上海密粒膜分离技术有限公司生产)过滤,分别取 10 mL 滤液,无菌操作注入到 100 mL 预培养 1 周的铜锈微囊藻 905 中(此时藻刚进入对数生长期,起始浓度约为 2×10^6 cells/mL),对照组注入 10 mL 经 0.8 μm 滤膜过滤后高温灭菌的水样,分别混合均匀,按 1.1 条件培养 1 周。将对照组生长正常,实验组黄化的藻液作为分离溶藻细菌的材料。取黄化藻液适度稀释,平板涂布,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h,对平板培养出的众多细菌再划线分离纯化,获得单个菌落。将单个菌落分别接种于肉汤培养基中,37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡培养 24 h,取 10 mL 菌液加入 100 mL 藻液中,按 1.1 培养条件培养 2 d 后,能使藻液黄化明显的单菌落即为溶藻细菌。菌株的形态鉴定参考中国科学院微生物研究所细菌分类组编写的《一般细菌常用鉴定方法》^[16]。16S rDNA 序列分析在中国典型培养物武汉保藏中心进行。

1.4 DC-L5 的毒性检测 参考沈萍主编的《微生物学实验》^[15],增加其注射剂量。将菌株接种于肉汤培养基中,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱内培养 24 h,取原菌液作为注射材料。6 只生长一致的昆明小白鼠(购自武汉大学动物实验中心),其中 3 只各腹腔注射 0.5 mL 原菌液(菌浓度约为 10^7 cfu/mL)作为处理组,另 3 只各腹腔注射同量的生理盐水作为对照组。每组小白鼠正常喂食,逐日观察有无中毒症状。

1.5 DC-L5 生长曲线的测定 细菌生长曲线的测定参考沈萍主编的《微生物学实验》^[15],将 4 mL 静置培养 18 h 的细菌种子液接种于 100 mL 肉汤培养基中,37 $^{\circ}\text{C}$,100 r/min 振荡培养,每隔 2 h 取样在 600 nm 处测定吸光度值。

1.6 不同阶段的 DC-L5 培养物溶藻效果的差异 由 DC-L5 菌株的生长曲线,分别选取延缓期、对数期、稳定期、衰亡期的菌液 10 mL,分别添加到 100 mL 预培养 1 周的铜锈微囊藻 905 中,在 1.1 培养条件下进行溶藻实验,定期测定藻叶绿素 *a* 含量^[17]。

1.7 DC-L5 不同添加方式对铜锈微囊藻 905 生长的影响 细菌培养物的 4 种添加方式包括:高温热处理(121 $^{\circ}\text{C}$ 压力锅内加热 30 min)的菌液、4 $^{\circ}\text{C}$ 下 8000 r/min 离心 15 min 沉降后的菌体(用无菌水重

悬后加入藻中)、4 $^{\circ}\text{C}$ 下 8000 r/min 离心 15 min 后的上清液(在牛肉膏固体培养基上划线验证此上清液无菌)以及未经处理的菌液。100 mL 铜锈微囊藻 905 中添加 10 mL 细菌培养物组分,在 1.1 培养条件下进行溶藻实验,分别测定 4 d 后藻叶绿素 *a* 含量。

1.8 DC-L5 对惠氏微囊藻、绿色微囊藻、水华束丝藻和水华鱼腥藻的溶解效果 细菌 DC-L5 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 后,按 10% 的接种量分别接种到培养 1 周左右的铜锈微囊藻 905、绿色微囊藻 102、惠氏微囊藻 107、水华束丝藻和水华鱼腥藻中,在 1.1 培养条件下进行溶藻实验,测定 4 种受试藻的叶绿素 *a* 含量,并计算其下降比例。

1.9 DC-L5 对自然藻华的溶藻试验 500 mL 自然藻华中按菌:藻体积比 1:10 添加 DC-L5 菌液,起始细菌浓度为 6.2×10^8 cfu/mL,藻浓度为 1.2×10^7 /mL。培养条件同 1.1,定时测定叶绿素含量,连续照相和显微镜观察。

2 结果

2.1 溶藻细菌的分离及鉴定

从滇池分离到两株溶藻细菌,本文研究其中一株细菌 DC-L5。DC-L5 在牛肉膏固体培养基上培养过夜,菌落为圆形,白色,不透明。革兰氏染色为阳性。电镜观察菌体直杆状,两端稍圆,单个排列,有少量的端生芽孢,有鞭毛,能运动。经中国典型培养物保藏中心通过 16S rDNA 分子鉴定为 *Bacillus pumilus*,短小芽孢杆菌,同源性大于 99%,鉴定号为:CS070607500-5001。已有关于短小芽孢杆菌溶藻的报道^[18]。

2.2 DC-L5 的毒性检测

注射细菌 DC-L5 的小白鼠四肢运动灵活,饮食未见异常,饲养 1 周后仍无中毒症状,初步显示该菌株未产生小白鼠中毒毒素,具有一定的安全性。

2.3 DC-L5 的生长曲线

从图 1 可以看出菌株在 0—8 h 处于延滞期,8—26 h 处于对数生长期,26—36 h 处于稳定期,36 h 以后进入衰亡期。参考沈萍主编的《微生物学实验》^[15]代时计算公式得 DC-L5 的 $G = 5.30 \text{ h}$ 。代时能够反应细菌的生长速率,代时短生长速率快,浓度增长就快。本实验室已证明细菌溶藻与细菌生长速度和浓度密切相关^[11],DC-L5 代时较短,可以在较短时间内增加其浓度,满足溶藻的浓度要求。

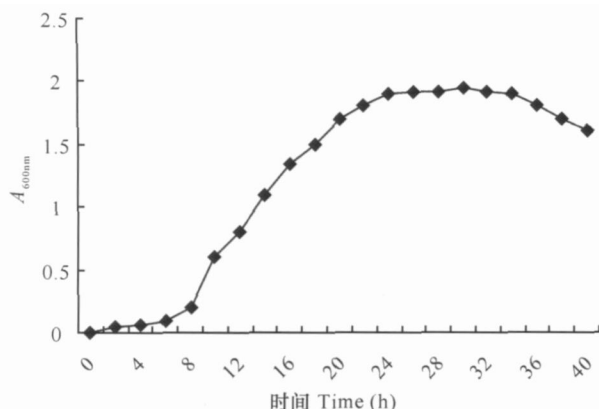


图1 细菌 DC-L5 的生长曲线

Fig. 1 The growth curve of strain DC-L5

2.4 不同阶段的细菌培养物溶藻效果的差异

根据图1细菌DC-L5生长曲线,选取培养5、20、31、40h的菌液分别代表延缓期、对数期、稳定期、衰退期的DC-L5菌液。由图2可见,添加处于对数生长期的菌液时,溶藻效果最明显,作用5d铜锈微囊藻905的叶绿素a含量下降了83.33%。加入对数生长期菌液后,12h时在显微镜下观察到有黄化的藻细胞,3—4d细胞全部溶解。细菌处于其他3个生长期时也能抑制藻生长,稳定期效果强于衰退期,延缓期效果最弱。对数生长期的细菌细胞代谢活力最强,合成新物质的速度最快,对不良环境的抵抗力强。之后细菌经过短暂的稳定期进入衰退期,此时细菌死亡率增加,浓度和生长速度都很低,甚至还有可能发生自溶,细菌活性低。郑天凌等^[19]比较了细菌对不同时期藻的溶解效果,在延缓期藻中加入细菌可以较为有效地控制藻细胞的增殖。而在对数期藻中加入同样浓度的细菌,其效果不如延

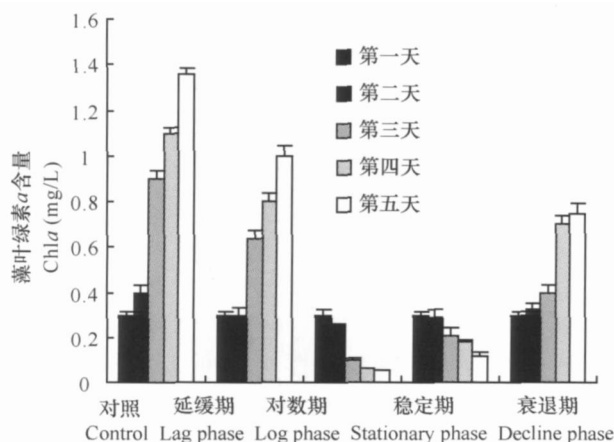


图2 不同生长期 DC-L5 的溶藻效果

Fig. 2 The effect of DC-L5 of different growth phase on the contents of Chl. a of *M. aeruginosa*

滞期显著,在细菌加入的最初,对藻细胞的生长是有一定的抑制作用的,但随着时间的延长,藻细胞逐渐克服了这种抑制从而密度逐渐增加到接近正常的水平。本文实验也得出结论当细菌处于对数生长期时,其溶藻效果最强。所以在控制蓝藻水华的实际操作中,如果从藻类延缓期着手,添加溶藻效果最好的对数生长期的溶藻细菌,能更好地达到控藻的目的。

2.5 细菌培养物不同组分对铜锈微囊藻 905 生长的影响

在铜锈微囊藻905中接入细菌培养物不同组分,实验4d后,发现各种组分均能使铜锈微囊藻的叶绿素含量下降(图3)。无菌上清液和沉淀菌体各自的溶藻效果都不及原菌液,说明菌体和培养液两者共同作用溶藻,推测该菌可能是通过直接接触导致藻细胞的凝集及进一步的生物降解,同时存在抑制藻细胞生长的胞外分泌物。本实验室也曾报道过细菌通过直接接触溶藻^[10]和分泌胞外物质溶藻^[9]。高温热处理后菌液溶藻效果较差,叶绿素a含量仅下降11.48%,推测高温可能使菌体或胞外分泌物失活。2.4和2.5的实验结果显示不同生长期和不同添加方式的DC-L5菌液溶藻效果差异显著($P < 0.05$),可见在溶藻试验中,细菌培养基本身对溶藻的影响较小。

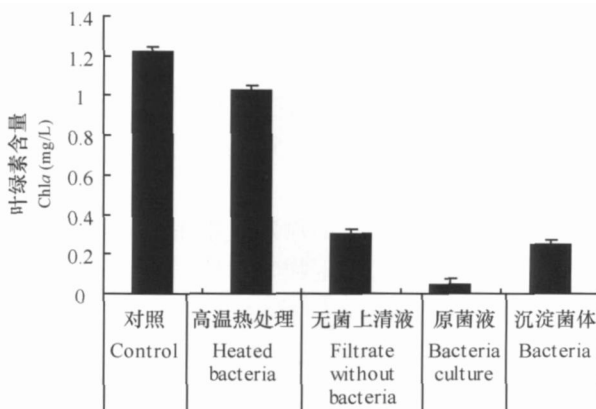


图3 细菌 DC-L5 不同组分对铜锈微囊藻 905 叶绿素 a 含量的影响

Fig. 3 The effects of the different bacterial cultures of strain DC-L5 on the Chl a contents of *M. aeruginosa*

2.6 DC-L5 对惠氏微囊藻、绿色微囊藻、水华束丝藻和水华鱼腥藻的溶解效果

滇池蓝藻主要是微囊藻,其次为束丝藻和鱼腥藻^[20],微囊藻中以铜锈微囊藻占绝对优势,其次为惠氏微囊藻、绿色微囊藻。本文实验用的铜锈微囊藻、惠氏微囊藻、绿色微囊藻、水华束丝藻和水华鱼

腥藻均自滇池水华中分离并保种,表 1 结果显示 DC-L5 对惠氏微囊藻、绿色微囊藻、水华束丝藻和水华鱼腥藻都有较强溶藻效果,使 4 种蓝藻叶绿素 *a*

含量平均下降 62.25%,为利用 DC-L5 治理滇池水华提供了一定的理论依据。

表 1 四天内 DC-L5 对惠氏微囊藻、绿色微囊藻、水华束丝藻和水华鱼腥藻的溶解效果

Tab. 1 The effect of DC-L5 on the contents of Chl. *a* of four bloom algae from Lake Dianchi in 4 days

藻种名称 Name of algae	叶绿素 <i>a</i> 下降率 Reduction of chlorophyll <i>a</i> contents (%)
惠氏微囊藻 <i>Microcystis viridis</i> , FACHB 102	62.5 ±2.0
绿色微囊藻 <i>Microcystis wesenbergii</i> , FACHB107	67.6 ±2.3
水华鱼腥藻 <i>Anabaena flos-aquae</i> (Lyngh.) Breb.	60.4 ±1.8
水华束丝藻 <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> (L.) Ralfs.	58.5 ±1.6

2.7 DC-L5 对自然藻华微囊藻的溶藻实验

有研究表明微囊藻形成水华优势的重要原因是它的群体性,因为群体微囊藻与单细胞微囊藻相比,具有高光合特性、高效的无机碳亲和能力和高效的抗胁迫能力^[21]。Lovejoy 曾指出一些溶藻细菌能够

使宿主细胞变圆、膨胀,叶绿体与细胞壁分离(宿主为真核藻类),然后导致细胞溶解^[22]。林伟等报道某些细菌可能影响藻细胞的形态,使藻细胞大小不一,下沉附底,促使藻细胞老化^[23]。从 DC-L5 对自然藻华微囊藻的溶藻实验推测 DC-L5 首先破坏了

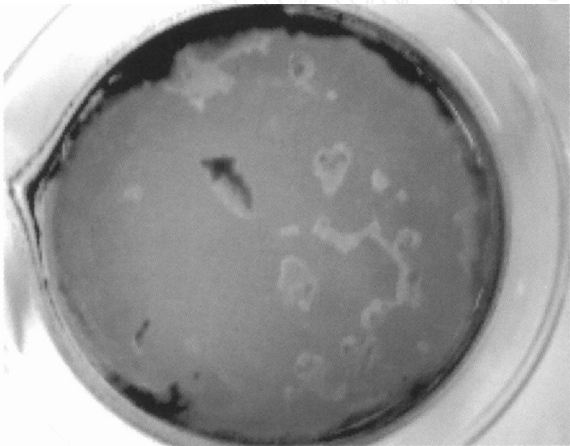


图 4 添加细菌 2d 后
Fig. 4 2d after adding DC-L5

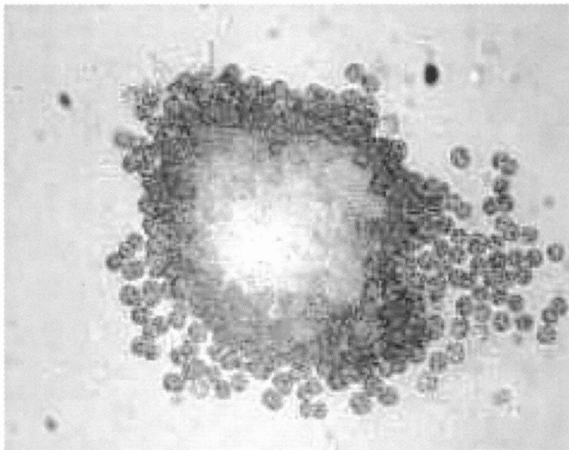


图 6 添加细菌 6h 后显微镜观察(×100)
Fig. 6 6h after adding DC-L5 under the microscopy (×100)



图 5 添加细菌 4d 后
Fig. 5 4d after adding DC-L5

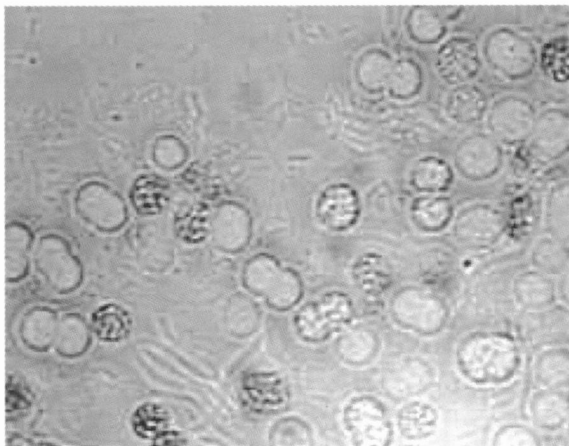


图 7 添加细菌 2d 后显微镜观察(×200)
Fig. 7 2d after adding DC-L5 under the microscopy (×200)

微囊藻的群体性(图4和图6),再进一步破坏微囊藻的漂浮性,使微囊藻分散结块、下沉(图5),最后降解单细胞藻的色素和释放其他内含物(图7)。本文观察到的溶藻细菌溶解自然藻华的过程,为溶藻细菌治理蓝藻水华提供了进一步的理论和技术支持。

3 结 论

1)从滇池蓝藻水华集聚区分离获得一株溶藻细菌 DC-L5,经形态 16S rDNA 序列分析鉴定为 *Bacillus pumilus*;用小白鼠进行生物安全实验,腹腔注射 0.5 mL、浓度约为 10^7 cfu/mL 的菌液,小白鼠无中毒症状。

2)该菌对绿色微囊藻、惠氏微囊藻、水华鱼腥藻和水华束丝藻均有较强的溶藻能力,使 4 种水华蓝藻叶绿素 *a* 下降率最高为 67.6%,最低为 58.5%,平均为 62.25%。

3)当细菌处于对数生长期,浓度约为 10^7 cfu/mL 时溶藻效果最强,共培养 5d 能使起始浓度约为 2×10^6 cells/mL 的铜锈微囊藻 905 的叶绿素 *a* 含量下降 83.33%。

4)DC-L5 可能是通过直接接触使铜锈微囊藻 905 细胞凝聚下沉及进一步的生物降解,同时存在抑制藻细胞生长的胞外分泌物,此物质不耐高温;对于自然藻华则是先破坏群体性和漂浮性,再降解单细胞藻的色素和释放其他内含物。

参考文献:

- [1] Yin L Y, Huang J Q, Liu Y D. Microcystin-RR uptake and its effects on the growth of submerged macrophyte *Vallisneria spiralis* (Lour.) Hara [J]. *Environmental Toxicology*, 2005, 3(20): 308—313
- [2] Hu Z Q, Liu Y D, Li D H, et al. Growth and antioxidant system of the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* in response to microcystin-RR [J]. *Hydrobiologia*, 2005, 534: 23—29
- [3] Li X Y, Wang J, Liang J B, et al. Toxicity of microcystins in the isolated hepatocytes of common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, 67: 447—451
- [4] Zhao C P, Pu Y P, Yin L H. Development of research on algicidal bacteria and its evaluation [J]. *Journal of Southeast University (Medical Science Edition)*, 2005, 24(3): 202—206 [赵传鹏, 浦跃朴, 尹立红. 溶藻细菌及其测定评价方法的研究进展. 东南大学学报(医学版), 2005, 24(3): 202—206]
- [5] Studies on the Ecophysiological Effects and Mechanisms of Algae-lysing Bacteria against the Algae Thesis for doctor of Science [D]. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 2006 [史顺玉. 溶藻细菌对藻类的生理生态效应及作用机理研究. 博士学位论文. 中国科学院水生生物研究所, 武汉. 2006].
- [6] Li X C, Pei H Y, Hu W R. Development of the research on algicidal bacteria and its algicidal substances [J]. *Industrial Water Treatment*, 2007, 27(6): 10—13 [李小彩, 裴海燕, 胡文容. 溶藻细菌及溶藻物质研究进展. 工业水处理, 2007, 27(6): 10—13]
- [7] Li X Y, Song L R, Liu Y D. The production, detection and toxicology of microcystins [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1999, 23(5): 517—522 [李效宇, 宋立荣, 刘永定. 微囊藻毒素的产生、检测和毒理学研究. 水生生物学报, 1999, 23(5): 517—522]
- [8] Zhao Y J, Liu Y D. Possible microbial control on the adverse impacts of algae 2 current information about the relationship between algae and microbes [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1996, 20(2): 173—181 [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. 水生生物学报, 1996, 20(2): 173—181]
- [9] Shi S Y, Shen Y W, Li D H, et al. Isolation, identification and algae-lytic characteristic of a bacterium *Staphylococcus* sp. [J]. *China Environmental Science*, 2006, 26(5): 587—590 [史顺玉, 沈银武, 李敦海, 等. 溶藻细菌 DC-21 的分离、鉴定及其溶藻特性. 中国环境科学, 2006, 26(5): 587—590]
- [10] Shi S Y, Liu Y D, Shen Y W, et al. The algae-lytic ability of bacterium DC10 and the influence of environmental factors on the ability [J]. *Science in China (Life Sciences)*, 2004, 6(34): 564—568
- [11] Shi S Y, Liu Y D, Shen Y W. Preliminary research on the algae-lysing characteristics of bacterium (strain DC23) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, 28(2): 219—221 [史顺玉, 刘永定, 沈银武. 细菌溶藻的初步研究. 水生生物学报, 2004, 28(2): 219—221]
- [12] Shi S Y, Liu Y D, Shen Y W, et al. Lysis of *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanobacterium) by a bacterium *Bacillus cereus* [J]. *Biological Control*, 2006, 3(39): 345—351
- [13] Liu Y M, Chen W, Liu Y D, et al. First report of aphanotoxins in China—waterblooms of toxigenic *Aphanizomenon flos-aquae* in Lake Dianchi [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2006, 65: 84—92
- [14] Pan X J, Chang F Y, Liu Y D, et al. Mouse toxicity of *Anabaena flos-aquae* from Lake Dianchi, China. *Environmental Toxicology. Published online in Wiley InterScience* DOI 10.1002/tox.20385. 2008
- [15] Shen P, Fan X R, Li G W. Microbiology test [M]. Beijing: High Education Publishers 2002 [沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学试验(第三版). 北京: 高等教育出版社. 2002].
- [16] Department of classification of bacteria, Institute of Microbiology, CAS. Common methods of identification of bacteria [M]. Beijing: Science Publishers 1987 [中国科学院微生物研究所细菌分类组. 一般细菌常用鉴定方法. 北京: 科学出版社. 1978]

- [17] Wintemans J F G M, DeMots A. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1965, **109**: 448—453
- [18] Liu J, Pan W B, Qin Y J. Isolation and identification of two algae-lysing Bacteria and their lytic character [J]. *Environmental Science and Technology*, 2007, **2** (30): 17—21 [刘晶, 潘伟斌, 秦玉洁. 两株溶藻细菌的分离鉴定及其溶藻特性. 环境科学与技术, 2007, **2** (30): 17—21]
- [19] Zheng T L, Tian Y, Su J Q, *et al*. Study on the ecological relationship between a red tide causative alga and three strains of bacteria isolated from Xiamen Harbor [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, **12** (22): 2063—2070 [郑天凌, 田蕴, 苏建强, 等. 海洋赤潮生物与厦门海域几种细菌的生态关系研究. 生态学报, 2002, **12** (22): 2063—2070]
- [20] Liu L P, Zhang X M, Zhao X H. Approach on comprehensive control countermeasures for algae blooms in Lake Dianchi [J]. *Shanghai Environmental Sciences*, 2002, **12** (21): 745—747 [刘丽萍, 张秀敏, 赵祥华. 滇池水华综合控制对策探讨. 上海环境科学, 2002, **12** (21): 745—747]
- [21] Research on the process of eutrophication and outbreak mechanisms of blue algae in lake [J]. *Short Report*, 2006 (5) [973计划 2002CB412300项目湖泊富营养化过程与蓝藻水华暴发机理研究. 简报, 2006 (5)]
- [22] Lovejoy C, Bowman J P, *et al*. Algicidal effects of an ovelmarine *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): 2806—2813
- [23] Lin W, Chen M, Liu X Y. Antitumor activity of degraded chondrus ocellatus polysaccharide [J]. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 2000, **11** (31): 647—651 [林伟, 陈驊, 刘秀云. 海洋微藻除菌及除菌与自然带菌微藻生长特点比较. 海洋与湖沼, 2000, **11** (31): 647—651]

ISOLATION, IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF A STRAIN OF BLUE-GREEN ALGAE-LYSING BACTERIUM FROM LAKE DIANCHI

LU Lan-Lan^{1,2}, LI Gen-Bao¹, SHEN Yin-Wu¹, HU Ming-Ming^{1,2} and LIU Yong-Ding¹

(1. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China;

2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: In this study, one high-effect algae-lysing bacterium was isolated and purified from Lake Dianchi, which was labeled as the strain DC-L5. The effect, host range, biosafety, lysing mechanism and lysing phenomenon of the algae-lysing bacteria were analyzed. Results were as the followings: The strain was identified as *Bacillus pumilus* by means of morphological observation and 16S rDNA sequence analysis in the CCTCC (China Center for Type Culture Collection). Toxicity test with mouse primarily showed that the strain was non-toxic. 4 kinds of DC-L5 cultures of different growth phases were added to *Microcystis aeruginosa*, and the strongest algae-lytic ability was found in the log phase of DC-L5 cultures. Chlorophyll *a* contents in culture of *Microcystis aeruginosa* reduced by 83.33% in 5 days. For the host range experiment, 4 kinds of dominant cyanobacteria in Lake Dianchi was researched, and average reduction rates of Chlorophyll *a* of 62.25% in cultures of *Microcystis viridis*, *Microcystis wesenbergii*, *Aphanizomenon flos-aquae* and *Anabaena flos-aquae* was observed with the highest 67.6% and the lowest 58.5% in 4 days respectively. After centrifugation and sedimentation, both the cells of bacteria and the cell-free suspension had strong algae-lytic activity, but the bacteria culture had the strongest algae-lytic activity, so it maybe showed the strain DC-L5 could directly cause the cyanobacterial cells agglomerated, sinked down and further lysed while the strain could excrete extra-cellular substances able to lyse cyanobacterial cells. In order to improve the algae-lytic activity of the strain DC-L5 to nature bloom, the bacteria cultures were added to nature cyanobacterial bloom dominant with *Microcystis aeruginosa*, which were sampled from Lake Dianchi and cultured in the lab. The result of nature bloom experiment showed the strain DC-L5 firstly disaggregated the cyanobacterial colony, reduced the floatability, degraded the pigments and then released inclusions of algal cells.

Key words: Algae-lysing bacterium; Biological control; *Bacillus*; Water bloom; *Microcystis*