

# 溶藻细菌 MS7 的分类鉴定及其溶藻活性的初步研究\*

黄晶晶 汪雪婷 夏赛周 陈敏

(杭州师范大学生命与环境科学学院 杭州 310036)

**提要** 采用形态学、生理生化指标和 16S rRNA 基因序列同源性分析的方法,对菌株 MS7 进行鉴定,并通过溶藻试验测定该菌株对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)的溶藻活性和溶藻方式。结果表明,MS7 菌株为苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*),对铜绿微囊藻具有高效溶藻效果,当菌浓度为  $10^8$  cells/mL,初始藻液叶绿素 *a* 浓度为 0.7mg/L 时,48h 溶藻率达到 91%。主要通过分泌胞外物质的间接方式溶藻,溶藻物质属于具有很强的热稳定性的非蛋白质类物质。

**关键词** 溶藻细菌;铜绿微囊藻;溶藻活性;菌种鉴定

**中图分类号** Q938

随着全球水体富营养化程度的加剧,有害藻类水华的爆发日趋频繁,影响日益加深,已经成为全球性的环境问题之一,并给水产资源和养殖业造成了严重的危害和损失。研究藻类水华的发生规律,探索经济有效的防治方法,对于保护水体环境、人类健康以及养殖业等,具有非常重要的科学意义和应用前景(Shi *et al.*, 2009; 李文娟, 2010<sup>1</sup>)。

近年来,在水华多发国家和地区,众多学者在灾害性水华治理措施方面进行了大量的研究工作,探索了多种治理措施,包括工程物理方法、化学药剂法以及生物治理技术等(李建宏, 1998; 洪爱华等, 2003; 尹平河等, 2001)。与物理和化学控藻方法相比,生物控藻具有方法简单、不易引起污染等优点,因而成为目前水华治理研究的热点之一,其中溶藻细菌(algicidal bacteria)被公认为是目前极具潜力的生物控藻新技术(罗固源等, 2010; Min *et al.*, 2008; Boyer, 2006),一些具有溶藻活性的菌株先后被分离和报道,例如 *Myxobacter* sp. (王君洁, 2007)<sup>2</sup>、*Cytophaga*

strain 41-DBG2 (Doucette, 1999)、*Pseudoalteromonas* strain Y (Lovejoy *et al.*, 1998)、*Sphingomonas* sp. (Iamura *et al.*, 2000)、*Flavobacterium* sp.5N-3 (Fukami *et al.*, 1992)、*Rhodococcus* sp.(裴海燕等, 2005)等,但至今少见有溶藻活性的苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)的报道。

本文报道一株具有高效溶藻活性的细菌 MS7,经形态、生理生化和分子鉴定为苏云金芽孢杆菌,对该菌株的溶藻效果和溶藻方式进行了初步研究,期为富营养化水环境的藻类治理提供理论基础和应用参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 藻种

铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)购于中国科学院水生生物研究所藻种保藏中心。

### 1.2 菌种

MS7 菌株:分离自富营养化水体,本研究室保藏。

\* 浙江省自然科学基金项目, Y307452 号;杭州市科技发展计划项目, 20101032B26 号。黄晶晶, 硕士研究生, E-mail: huangjj2468@163.com

1) 李文娟, 2010. 溶藻细菌的分离鉴定及其溶藻特性研究. 重庆: 重庆大学硕士学位论文, 1—2

2) 王君洁, 2007. 溶藻细菌和溶藻粘细菌的分离及溶藻效果研究. 武汉: 华中师范大学硕士学位论文, 8—9

通讯作者: 陈敏, 教授, E-mail: mchen63@163.com

收稿日期: 2012-05-19, 收修改稿日期: 2012-08-28

### 1.3 培养基

BG11 培养基:  $\text{NaNO}_3$  1.5g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.04g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.075g,  $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.036g,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0.02g, 柠檬酸 0.006g, 柠檬酸铁 0.006g, 微量元素溶液 A5 1mL, 氨苄青霉素 50g, 琼脂 20g, 蒸馏水 1000ml, pH 7.1。

LB 培养基: 胰蛋白胨 10g, 酵母提取物 5g, 氯化钠 10g, 琼脂粉 15g, 蒸馏水 1000ml, pH 7.0—7.4。

### 1.4 叶绿素 *a* (Chl *a*) 含量及去除率的计算(国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会, 2002)

用叶绿素 *a* 浓度表征溶藻效果。叶绿素 *a* 质量浓度采用丙酮提取分光光度法。将藻液摇匀后, 取 30ml 加入到离心管中, 4000r/min 离心 10min, 用枪头吸去上清液, 再加入 10ml 的 90% 丙酮溶液, 黑暗中提取 24h, 4000r/min 离心 10min, 取上清, 用 722 型分光光度计测定  $OD_{664}$ 。

$$\text{藻的去除率}(R) = (C_0 - C_e) / C_0$$

式中,  $C_0$  为对照样藻叶绿素 *a* 的含量(mg/L);  $C_e$  为处理样藻叶绿素 *a* 的含量(mg/L)。

### 1.5 菌种鉴定

**1.5.1 形态学鉴定** 按照《常见细菌系统鉴定手册》(东秀珠等, 2001)。

**1.5.2 生理生化鉴定** 根据形态鉴定结果, 选择合适的测试鉴定卡, 按照 VITEK 2 Compact 全自动微生物分析系统标准操作流程进行(王原等, 2010)。

**1.5.3 16S rRNA 基因测序** 16S rRNA 基因扩增参见文献(叶姜瑜等, 2011)。PCR 产物送交上海英俊生物技术公司进行序列测定。

**1.5.4 系统发育树的构建及分析** 测序结果提交到 GenBank 得到基因序列登录号, 并通过 EzTaxon server 2.1 寻找相似性较接近的模式菌株的 16S rRNA 序列, 利用 MEGA5.0 软件构建系统发育进化树。

### 1.6 溶藻试验及藻细胞形态观察

将 MS7 斜面菌种接入到 LB 液体培养基中, 37℃、180r/min 振荡培养至菌浓度为  $10^8$  cells/ml。将铜绿微囊藻藻种活化后接种于 BG-11 培养基, 置于 25℃ 恒温光照培养箱中静置培养, 光照强度 2000—2500 lx, 光暗周期比 14h : 10h, 至藻液 Chl *a* 浓度为 0.7mg/L。分别取 1ml 菌液和 50ml 藻液均匀混合, 放入 37℃、180r/min 的摇床中振荡培养, 每隔 4h 取样测定 Chl *a* 浓度, 并观察藻细胞形态变化。

### 1.7 不同菌液浓度的溶藻效果

将浓度为  $10^8$  cells/ml 的 MS7 菌悬液, 用无菌水

分别稀释成  $10^6$ 、 $10^4$ 、 $10^2$  cells/ml 的稀释度。分别取 10ml 加入到 50ml Chl *a* 浓度为 0.7mg/L 的藻液中, 对照组为 10ml 灭菌 BG-11 培养基。24h 后测定各样品的 Chl *a* 浓度。

### 1.8 溶藻方式

参照汪辉等(2008)的方法, 将浓度为  $10^8$  cells/ml 的 MS7 原菌液、原菌液经 0.22 $\mu\text{m}$  滤膜过滤后的过滤液、高温 121℃ 20min 处理后的过滤液各 10ml, 分别加入到 50ml Chl *a* 浓度为 0.7mg/L 的藻液中进行溶藻试验。对照组为 50ml 藻液加 10ml 灭菌 BG-11 培养基。

## 2 结果与分析

### 2.1 MS7 菌株鉴定

菌体呈杆状(图 1), 细胞大小为  $(3.2 \pm 0.3) \times (0.75 \pm 0.15) \mu\text{m}$ , 革兰氏染色阳性, 有芽孢和伴胞晶体。LB 培养基上菌落圆形, 淡黄色, 湿润, 有光泽, 不透明(图 2)。

MS7 菌株的生理生化检测指标如表 1 所示, 经梅里埃 VITEK 2 Compact 全自动微生物分析仪分析, 鉴定结果为: *Bacillus thuringiensis* 86% 可能性, 属于可

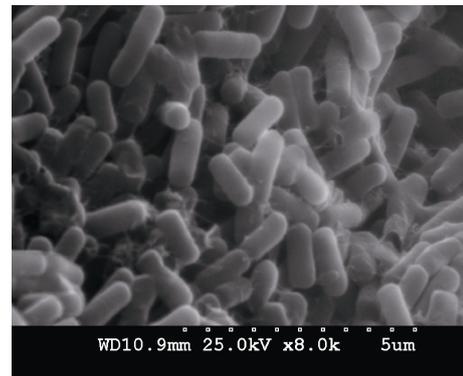


图 1 MS7 菌株的电镜照片

Fig.1 Electron micrograph of strain MS7



图 2 MS7 菌株的菌落形态

Fig.2 Colony morphology of strain MS7

表 1 MS7 菌株的生理生化特性  
Tab.1 Physiological and biochemical characteristics of strain MS7

指标	结果	指标	结果
β-木糖苷酶(BXYL)	+	D-甘露醇(dMAN)	+
L-赖氨酸芳胺酶(LysA)	+	D-甘露糖(dMNE)	-
L-天冬氨酸芳胺酶(AspA)	+	D-松三糖(dMLZ)	-
亮氨酸芳胺酶(LeuA)	+	N-乙酰-D-葡萄糖氨(NAG)	+
苯丙氨酸芳胺酶(PheA)	+	古老糖(PLE)	-
脯氨酸芳胺酶(ProA)	-	L-鼠李糖(IRHA)	-
β-半乳糖苷酶(BGAL)	(+)	β-葡萄糖苷酶(BGLU)	+
吡咯烷基芳胺酶(PyrA)	+	β-甘露糖苷酶(BMAN)	-
α-半乳糖苷酶(AGAL)	+	磷酸基维生素 B(PHC)	+
丙氨酸芳胺酶(AlaA)	+	丙酮酸盐(PVATE)	+
酪氨酸芳胺酶(TyrA)	+	α-葡萄糖苷酶(AGLU)	-
N-乙酰-β-D-葡萄糖氨酶(BNAG)	+	D-塔格糖(dTAG)	-
丙氨酸-苯丙氨酸-脯氨酸芳胺酶(APPA)	+	D-海藻糖(dTRE)	+
CYCLODEXTRINE(CDEX)	-	菊粉(INU)	-
D-半乳糖(dGAL)	(+)	D-葡萄糖(dGLU)	+
糖元(GLYG)	-	D-核糖(dRIB)	+
肌醇(INO)	-	腐胺同化(PSCNa)	(-)
甲基葡萄糖甙酸化(MdG)	-	6.5% 氯化钠生长(NaCl 6.5%)	(-)
ELLMAN(ELLM)	(-)	卡那霉素耐受(KAN)	-
甲基-D-木糖苷(MdX)	-	竹桃霉素耐受(OLD)	-
α-甘露糖苷酶(AMAN)	(+)	七叶灵水解(ESC)	+
麦芽三糖(MTE)	+	多粘菌素 B 耐药(TTZ)	-
氨基酸芳胺酶(GlyA)	(-)	多粘菌素 B 耐药(POLYB_R)	+

注: +: 阳性反应; -: 阴性反应; (+)或(-): 弱反应

接受的鉴定(Acceptable identification)。

扩增 MS7 菌株的 16S rRNA 基因序列, 将 PCR 产物进行序列测定, 测序结果提交到 GenBank, 得到基因序列登录号为 JX845718。在 NCBI 中进行同源性比对, 结果与芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 的 16S rRNA 序列自然聚类, 在相似性最高的 100 个序列中芽孢杆菌占 97%, MS7 与它们的同源性在 99%—100%。从 100 个序列中挑取 11 个已知种的 16S rRNA 序列进行系统发育树的构建(图 3), MS7 菌株与 *Bacillus thuringiensis* AM778995.1 归为一类的可信度为 100%。

综合以上形态、生理生化和 16S rRNA 基因测序结果, 初步鉴定 MS7 菌株为苏云金芽孢杆菌(*Bacillus*

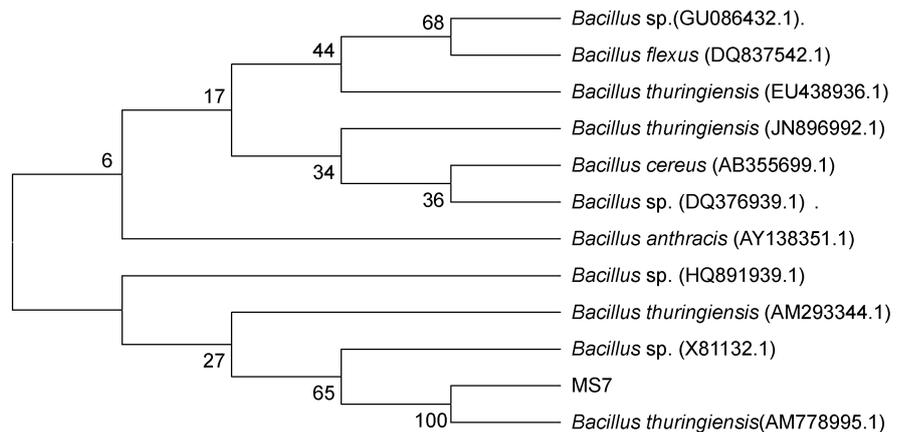


图 3 MS7 菌株的系统发育树

Fig.3 The phylogenetic tree of strain MS7

*thuringiensis*)。

## 2.2 MS7 的溶藻效果

将菌-藻共培养, 每隔 4h 取样测定叶绿素 *a* 浓度。实验结果表明, 在投加菌液的最初 8h 内, 藻液的叶

绿素 *a* 浓度略有增长(图 4), 分析主要原因是此时细菌尚未大量繁殖。8h 之后, 随着细菌的快速生长繁殖, 溶藻作用开始显现, 藻液的叶绿素 *a* 浓度迅速下降。到 24h 时, 溶藻率为 68.04%; 48h 时, 溶藻率达到 91%; 72h 时, 几乎完全溶藻, 说明 MS7 菌株对铜绿微囊藻有高效的去除效果。

光学显微镜下观察藻细胞的形态变化(图 5)。正常铜绿微囊藻细胞, 细胞壁完整, 胞质均匀(图 5a); 加入 MS7 菌液 8h 后, 藻细胞的细胞壁仍然完整, 但胞质浓缩, 并呈现较明显的颗粒状(图 5b); 12h 后藻细胞的细胞壁出现破裂, 胞质外漏, 并且叶绿素逐渐被破坏, 呈现棕黄色碎片(图 5c)。此观察结果与图 4 的溶藻曲线基本吻合。

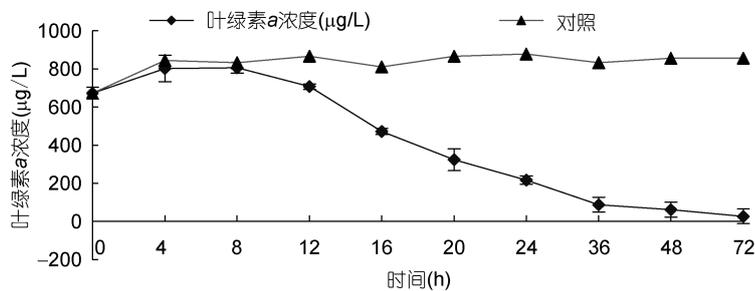


图 4 MS7 菌株对铜绿微囊藻的溶藻效果

Fig.4 Algae-lysing effects of strain MS7 on *M. aeruginosa*

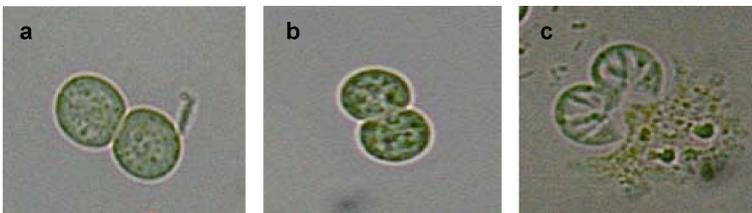


图 5 铜绿微囊藻的形态观察

Fig.5 Morphological observation of *M. aeruginosa*

### 2.3 MS7 菌液浓度对溶藻效果的影响

将 MS7 菌悬液稀释成  $10^8$ 、 $10^6$ 、 $10^4$  和  $10^2$  cells/ml 不同的稀释度, 分别加入藻液中进行溶藻试验。在初始叶绿素 *a* 浓度相同的情况下, 菌液浓度对溶藻效果的影响明显(图 6)。当菌浓度为  $10^2$  cells/ml 和  $10^4$  cells/ml 时, 溶藻率分别只有 3.14% 和 5.86%, 溶藻效果不明显; 当菌液浓度提高到  $10^6$  cells/ml 和  $10^8$  cells/ml 时, 溶藻率分别达到 44.46% 和 66.63%, 说明在一定范围内, 菌浓度越大, 溶藻率越高。

### 2.4 MS7 的溶藻方式

将 MS7 原菌液、经  $0.22\mu\text{m}$  滤膜过滤的过滤液以及高温  $121^\circ\text{C}$  处理 20min 后的过滤液, 分别加入到铜

绿微囊藻藻液中进行 24h 的溶藻试验, 实验结果如图 7 所示。

实验表明, 菌株 MS7 的菌液、膜过滤液以及高温处理后的滤液均有明显溶藻效果, 24h 的溶藻率分别为 68.2%、68.4% 和 67.3%。MS7 的膜过滤液与原菌液的溶藻率几乎相同, 说明 MS7 不是细胞直接溶藻, 而是通过释放胞外某种物质进行间接溶藻。而经过高温处理后的过滤液也仍然有很好的溶藻效果, 且溶藻率与未经高温处理的过滤液相近, 说明 MS7 释放的胞外溶藻物质应该属于具有很强的热稳定性的非蛋白质类物质。

## 3 讨论

微囊藻是我国最常见的形成水华的蓝藻, 且常产生具有强烈致癌作用的微囊藻毒素, 因此对溶解微囊藻的细菌的研究更具有现实意义。近年来, 已筛选分离到一系列具有溶解微囊藻效果的细菌, 芽孢杆菌 (*Bacillus*) 是其中一个重要的菌群。已报道的具有溶藻作用的芽孢杆菌主要有蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) (Nakamura *et al.*, 2003)、短小芽孢杆菌 (*B. pumilus*) (李木桂等, 2007)、梭形芽孢杆菌 (*B. fusiformis*) (Mu *et al.*, 2007) 和解淀粉芽孢杆菌 (*B. amyloliquefaciens*) (李超等, 2011) 等, 但至今少见有溶藻活性的苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*) 的报道。芽孢杆菌一般具有繁殖快、活力强的特点, 产生的芽孢在环境中能存活较长时间, 具有广泛的适应性。研究表明, 细菌的溶藻作用与细菌的浓度密切相关, 浓度越高, 溶藻效果越明显, 达到最佳

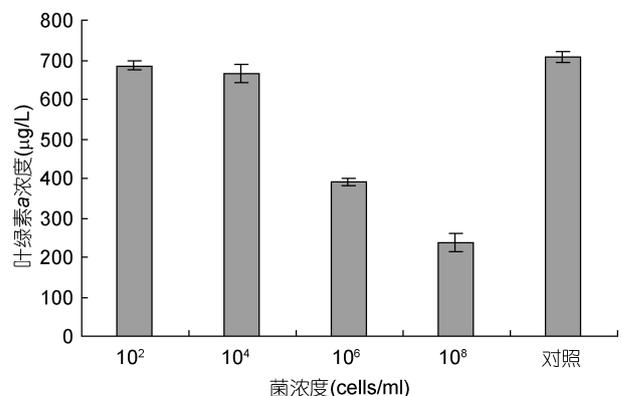


图 6 不同菌浓度的溶藻效果

Fig.6 Algae-lysing effects of different bacterial concentrations

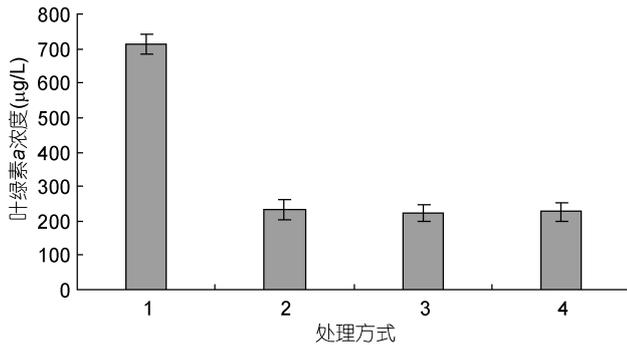


图7 菌液经不同方式处理后的溶藻效果

Fig.7 Algae-lysing effects of bacteria liquids after being treated with different methods

1. 对照; 2. 原菌液; 3. 膜过滤液; 4. 高温处理后的膜过滤液

溶藻效果的时间越短(Sigee *et al.*, 1999), 因此, 芽孢杆菌在生物控藻的实际应用中无疑具有明显的优势。

在已报道的文献中, 大多数溶藻菌株能作用的藻液初始叶绿素 *a* 的浓度在 0.2—0.6mg/L 范围内, 溶藻作用时间一般需要 7d 左右, 溶藻率才能达到 70%—90%。本研究中, 溶藻细菌 MS7 能在普通细菌培养基中快速生长, 培养 10h 左右, 细胞浓度即可达到  $10^8$  cells/ml。当初始藻液叶绿素 *a* 浓度为 0.7mg/L 时, 24h 的溶藻率即可达到 68%, 48h 时溶藻率为 91%, 72h 时几乎完全溶藻, 其溶藻效率之高, 溶藻时间之短, 明显超过已报道的其他菌株。因此, 对 MS7 菌株的研究不仅能丰富溶藻细菌的多样性, 同时也具有十分重要的潜在应用价值。

除分离菌株外, 目前对溶藻细菌的研究还包括溶藻方式等溶藻机理方面, 但总的来说, 国内外关于这方面的研究尚处于起始阶段。已有的研究表明, 溶藻细菌有两种溶藻方式, 一是直接溶藻, 表现为细菌与藻细胞直接接触, 甚至侵入藻细胞内, 达到杀藻的目的(Caiola *et al.*, 1984); 二是间接溶藻, 即细菌不与藻细胞直接接触, 而通过分泌某些化学物质导致藻细胞死亡(张勇等, 2004)。其中分泌胞外物质溶藻文献报道较多, 是溶藻细菌的主要作用方式。据报道, 溶藻细菌释放的杀藻物质主要包括蛋白质、多肽、氨基酸、抗生素和羟胺等(Lee *et al.*, 2000; Yamamoto *et al.*, 1998)。但迄今为止, 这些细菌杀藻物质大都未能鉴定, 溶藻机制仍不十分清楚。一般来说, 细菌杀藻物质的筛选是通过检测细菌培养物滤液是否具有溶

藻活性的方法进行的。由于溶藻细菌分泌的溶藻活性物质种类多, 理化性质各不相同, 同时活性物质质量很少, 浓缩富集的难度大, 因而溶藻物质的分离纯化和鉴定比较困难, 目前尚无一种合适的通用的方法, 大多只是采用质谱法、紫外光谱扫描法、红外光谱扫描法以及特征显色法进行初步的鉴定(李蕾, 2012)<sup>1)</sup>, 极大地限制了对溶藻机制的深入研究和新型生物杀藻剂的开发利用。本研究中, MS7 培养液的过滤液对铜绿微囊藻仍有很强的溶藻作用, 无需菌体与藻细胞直接接触, 故认为该菌株的溶藻方式可能为分泌某种胞外物质, 且该物质在高温 121℃ 仍能保持稳定的活性, 鉴于此物质的稳定性和强效溶藻力, 在后续工作中, 可以进一步鉴定其溶藻活性成分, 阐明溶藻作用的分子机理, 将整体研究推向一个新的高度。

### 参 考 文 献

- 王 原, 许江燕, 2010. VITEK2Compact 全自动微生物鉴定仪对葡萄球菌鉴定能力的评价. 生物医学工程学进展, 31(4): 206—208
- 尹平河, 赵 玲, 李坤平等, 2001. 缓释铜离子法去除海洋原甲藻赤潮生物的研究. 环境科学, 21(5): 12—16
- 东秀珠, 蔡妙英, 2001. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 43—65
- 叶姜瑜, 钟以蓉, 俞 岚等, 2011. 一株水华鱼腥藻溶藻菌的分离鉴定及菌藻关系初探. 安徽农业科学, 39(29): 18121—18124
- 李 超, 吴为中, 吴伟龙等, 2011. 解淀粉芽孢杆菌对鱼腥藻的抑藻效果分析与机理初探. 环境科学学报, 31(8): 1602—1608
- 李木桂, 刘 晶, 潘伟斌等, 2007. 3 株溶藻菌生长特性研究初报. 广州环境科学, 22(2): 1—3
- 李建宏, 1998. 电子水处理器灭藻效果的研究. 工业水处理, 18(1): 26—27
- 汪 辉, 刘兆普, 魏 微等, 2008. 一株溶藻菌的分离鉴定及其溶藻物质的研究. 中国环境科学, 28(5): 461—465
- 张 勇, 席 宇, 吴 刚, 2004. 溶藻细菌杀藻物质的研究进展. 微生物学通报, 31(1): 127—131
- 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会, 2002. 水和废水分析检测方法. 北京: 中国环境科学出版社, 670—671
- 罗固源, 刘 静, 王金霞等, 2010. 一株溶藻细菌对铜绿微囊藻的溶藻机理初探. 生态环境学报, 19(11): 2647—2651
- 洪爱华, 尹平河, 赵 玲等, 2003. 新洁而灭对海洋原甲藻赤潮生物的灭杀与抑制. 海洋环境科学, 22(5): 64—67

1) 李 蕾, 2012. 溶藻细菌的分离鉴定及其胞外活性物质对球形棕囊藻的溶藻特性研究. 广州: 暨南大学硕士学位论文, 7—8

- 裴海燕, 胡文容, 曲音波等, 2005. 一株溶藻细菌的溶藻特性及其鉴定. 中国环境科学, 25(3): 283—287
- Boyer G, 2006. Toxic cyanobacteria in the Great Lakes more than just the Western Basin of Lake Erie. Journal of Great Lakes Research, 7: 1—7
- Caiola M G, Pellegrini S, 1984. Lysis of *Microcystis aeruginosa* by *Bdellovibrio*-like bacteria. Journal of Phycology, 20(4): 471—475
- Doucette G J, 1999. Algicidal bacteria active against *Gymnodinium breve* (Dinophyceae). I. bacterial isolation and characterization of killing activity. Journal of Phycology, 35: 1447—1454
- Fukami K, Yuzawa A, Nishijima T *et al*, 1992. Isolation and properties of a bacterium inhibiting the growth of *Gymnodinium nagasakiense*. Nippon Suisan Gakkaishi, 58: 1073—1077
- Iamura N, Motoike I, Noda N *et al*, 2000. Argimicin A, a novel anti-cyanobacterial compound produced by an algae lysing bacterium. The Journal of Antibiotics, 53(11): 1317—1319
- Lee S, Kato J, Takiguchi N *et al*, 2000. Involvement of an extracellular protease in algicidal activity of the marine bacterium *Pseudoalteromonas* sp. Strain A28. Applied and Environmental Microbiology, 66(1): 4334—4339
- Lovejoy C, Bowman J P, Hallegraef G M, 1998. Algicidal effects of a novel marine *Pseudoalteromonas* isolate (Class *Proteobacteria*, Gamma subdivision) on harmful algal bloom species of the Genera *Chattonella*, *Gymnodinium*, and *Heterosigma*. Applied and Environmental Microbiology, 64(8): 2806—2813
- Min J K, Seong Y J, San G L, 2008. Isolation, identification and algicidal activity of marine bacteria against *Cochlodinium polykrikoides*. Journal of Applied Phycology, 20: 1069—1078
- Mu R M, Fan Z Q, Pei H Y *et al*, 2007. Isolation and algae-lysing characteristics of the algicidal bacterium B5. Journal of Environmental Science, 19(11): 1336—1340
- Nakamura N, Nakano K, Sugiura N *et al*, 2003. A novel cyanobacteriolytic bacteria, *Bacillus cereus*, isolated from a eutrophic lake. Journal of Bioscience and Bioengineering, 95: 179—184
- Shi S Y, Tang D S, Liu Y D, 2009. Effects of an algicidal bacterium *Pseudomonas mendocina* on the growth and antioxidant system of *Aphanizomenon flosaquae*. Current Microbiology, 59: 107—112
- Sigee D C, Glenn R, Andrews M J *et al*, 1999. Biological Control of cyanobacteria: principles and possibilities. Hydrobiologia, 396: 161—172
- Yamamoto Y, Kouchiwa T, Hodoki Y *et al*, 1998. Distribution and identification of *Actinomyces* lysing *Cyanobacteria* in a eutrotrophic lake. Journal of Applied Phycology, 10(2): 391—397

## IDENTIFICATION OF AN ALGICIDAL BACTERIA MS7 AND PRIMARY STUDY ON ITS ALGICIDAL ACTIVITY

HUANG Jing-Jing, WANG Xue-Ting, XIA Sai-Zhou, CHEN Min

(College of Life and Environmental Sciences, Hangzhou Normal University, Hangzhou, 310036)

**Abstract** An algicidal bacteria MS7 was identified based on morphology, physiology, and 16S rRNA gene sequencing. The strain is Gram-positive, rod in shape, containing spores and parasporal crystal. Phylogenetic analysis based on 16S rRNA gene homology showed that the strain was closely related to the member of *Bacillus thuringiensis* AM778995.1, with which they shared 100% similarity. By VITEK 2 Compact automatic microbial analysis system tests, the strain MS7 identified as *B. thuringiensis*. The algae-lysing effect and algicidal mechanism were investigated. When the MS7 density was  $10^8$  cells/ml and the initial concentration of Chlorophyll *a* was 0.7mg/L, the removal rate reached 91% after 48 hours. An extracellular substance produced by MS7 strain had algae-lysing ability, and it was identified as a therm-stable, non-protein substance. These results indicate that the strain MS7 is potential agents for the control of harmful algal blooms.

**Key words** Algicidal bacteria; *Microcystis aeruginosa*; Algicidal activity; Strain identification