

高效抑藻放线菌的筛选和活性

崔 妍, 李建宏*, 汪 燕, 付 鹿, 华秀红, 吴 敏

(南京师范大学生命科学学院, 南京 210046)

摘要: 为了寻找抑杀微囊藻的放线菌, 对江苏海洋滩涂土壤中分离到的放线菌进行了筛选, 获得了 1 株对微囊藻有强烈抑杀作用的菌株 YC0412。进一步实验表明这株放线菌对其它富营养水体中常见藻类, 小球藻、栅藻、鱼腥藻和集胞藻都有不同的抑杀作用, 藻的液体培养物中分别加入 1/10 体积的 YC0412 发酵液, 培养 3d 后生长分别被抑制了 32.4%, 12.46%, 32.9%, 82.19% 和 32.57%, 说明该菌的抑藻作用具有广谱性。通过对 YC0412 形态学特征、生理生化特性、细胞壁化学组分以及 16SrDNA 序列进行分析, 结果表明 YC0412 为 1 株灰霉素链霉菌 (*Streptomyces griseinus*)。为了弄清杀藻活性物质的性质, 对 YC0412 发酵液分别采用乙酸乙酯和氯仿进行了抽提, 测定结果显示, 乙酸乙酯提取物有很好的杀藻作用, 说明其活性产物应该是一种弱极性脂溶性物质。

关键词: 链霉菌; 铜绿微囊藻; 抑藻; 水华

文章编号: 1000-0933(2008)11-5691-07 中图分类号: Q143+.1 文献标识码: A

Isolation of a strong antialgal *Streptomyces* strain and study on its antialgal activities

CUI Yan, LI Jian-Hong*, WANG Yan, FU Lu, HUA Xiu-Hong, WU Min

Nanjing Normal University, College of Life Sciences, Nanjing 210046, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(11): 5691 ~ 5697.

Abstract: To find a anti-*Microcystis* microorganism as a biological control agent, we screened all actinomycetes isolated from soil samples of sea beach in Jiangsu Province, China. A strain YC0412 capable of strongly inhibiting the cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* PCC7806 was isolated. Growthes of *Anabaena* sp. PCC7120, *Synechococcus* sp. PCC6803, *Chlorella ellipsoidea* and *Scenedesmus* sp. were also inhibited by 32.4%, 12.46%, 32.9%, 82.19% and 32.57% respectively with 1/10 volume of YC0412 broth after 3 days. The data showed YC0412 had a wide host rang of antialgal activity. On the basis of morphological, physiological and biochemical characteristics, and 16S rDNA sequence, strain YC0412 was determined to be *Streptomyces griseinus*. To investigate the property of antialgal substance produced by YC0412, we extracted the culture broth of YC0412 with ethyl acetate or chloroform, and tested the anti-*Microcystis* activities of different fractions. The ethyl acetate extract fraction resulted in an stronger inhibition of *Microcystis*. That implied that the active substance should be a low polar and hydrophobic molecular.

Key Words: *Streptomyces*; *Microcystis aeruginosa*; Antialga; Water bloom

基金项目: 江苏省科技厅社会发展资助项目 (BS 2007065)

收稿日期: 2008-05-29; 修订日期: 2008-09-03

作者简介: 崔妍 (1984 ~), 女, 江苏人, 硕士生, 从事环境微生物学研究. E-mail: happyluckyme@163.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lijianhong@njnu.edu.cn

Foundation item: The project was financially supported by Research Program of Jiangsu Province of China (No. BS 2007065)

Received date: 2008-05-29; **Accepted date:** 2008-09-03

Biography: CUI Yan, Master candidate, mainly engaged in environmental microbiology. E-mail: happyluckyme@163.com

水体富营养化导致的蓝藻水华爆发已引起广泛关注^[1]。在我国滇池、太湖爆发的微囊藻水华造成了巨大的环境灾害,水库微囊藻水华的爆发给人类生活带来了极大影响^[2],微囊藻死亡和毒素的释放导致水质恶化^[3]。目前国内外广泛采用物理、化学、生物等方法控制水华。与其他方法相比,生物学方法价格低廉且安全,张青等应用微生物净水剂对北京陶然亭公园湖水的水华蓝藻进行了治理^[4],也有不少学者探讨了利用病毒、细菌等控制微囊藻生长^[5,6]。放线菌是抗生素等制药工业重要的微生物资源之一^[7],采用放线菌控制水华微囊藻的生长是值得深入研究的领域。本文从江苏海洋滩涂土壤中筛选到一株具有抑杀微囊藻活性的菌株 YC0412,对该菌株发酵液进行了抑藻活性研究,同时对其进行了鉴定并对活性物质的性质进行了初步研究。

1 材料与方法

1.1 藻种和放线菌来源

铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa* PCC7806)、集胞藻(*Synechocystis* sp. PCC6803)、鱼腥藻(*Anabaena* sp. PCC7120)均来自法国巴斯德研究所,由法国 LCB-CNRS 张承才教授惠赠;栅藻(*Scenedesmus* sp.)、椭圆小球藻(*Chlorella ellipsoidea*)由本实验室分离培养。放线菌 YC0412 从江苏海洋滩涂中分离获得。

1.2 实验材料的培养

铜绿微囊藻 PCC7806,集胞藻 PCC6803,鱼腥藻 PCC7120,栅藻和椭圆小球藻的培养基选用 BG-11 培养基^[8],25℃,光强 4000 lx,昼夜比 L:D = 12 h:12 h 培养。

放线菌培养采用高氏一号培养基^[9]培养。

1.3 放线菌株的分离与筛选

将从江苏海洋滩涂土壤中采集的土样,溶于灭菌蒸馏水震荡 10 min,取上悬液稀释成 1/10,1/100,1/1000 梯度。从各稀释管中取上悬液用无菌涂棒分别均匀涂布于高氏一号平板,上悬液 28℃ 培养 3~7 d,挑取不同生长特征的单个放线菌菌落,反复划线直至镜检为单一菌种,高氏一号斜面保存。将各株放线菌摇瓶培养得发酵液,离心去除菌体,取上清液,加入 OD₆₅₀ 0.3~0.5 铜绿微囊藻 PCC7806 液体培养物中,加入量为 1/10 体积,25℃ 条件下培养,光强 4000 lx,光照周期 12 h/12 h,观察 3~7 d,分别测定杀藻效果。通过几次筛选,从中选取作用效果显著而且稳定的菌株一株,按上述方法发酵得发酵液,加入铜绿微囊藻 PCC7806 中,采用丙酮法^[8]提取叶绿素 a 反映铜绿微囊藻的生长状况。同样体积地分别加入高氏一号培养基和另一株无抑藻作用的放线菌发酵液做对照。将经过初步分离的 YC0412 的发酵液按 1/10 分别加入 OD₆₅₀ 为 0.300 左右的各种微藻中,4 d 后分别测定叶绿素 a 含量。

1.4 微生物菌种的鉴定

参照有关文献^[10~13]对得到的放线菌菌株进行形态、培养特征、生理生化、胞壁氨基酸及全细胞糖组分的测定。参考姜成林^[14]和徐平等^[15]的方法提取基因组 DNA,用细菌通用引物 primerA (5'-AGAGTTTGATC-CTGCTCAGAAC-3') 和 primerB (5'-TACGGCTACCTTGTACGACTT-3') 扩增菌株的 16S rDNA。PCR 循环参数为 95℃ 热启动 5 min,95℃ 变性 1 min,59℃ 退火 2 min,72℃ 延伸 2 min,30 个循环,最后 72℃ 延伸 10 min。取 5 μl 反应液经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳,EB 染色,紫外检测并拍照,PCR 产物的纯化和测序由上海英俊生物技术有限公司完成。将菌株 YC0412 的 16S rDNA 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。

1.5 放线菌发酵液活性成分性质的初步鉴定

将摇床发酵获得的 1 L 菌液 4000 r/min 离心 10 min 去除菌体,取上清液,于分液漏斗中分别用乙酸乙酯和氯仿萃取 2 h,反复 3 次,收取脂溶性成分合并。将上述成分通过旋转蒸发的方法浓缩,55℃,真空旋转蒸发至干,用乙醇重新溶解至原体积的 1/100。

水相部分用无水乙醇反复沉淀,离心去除水相中的多糖等大分子物质。55℃ 真空旋转蒸发浓缩至干,用铜绿微囊藻 PCC7806 培养液 BG-11 溶解至原体积的 1/100。分别将水相浓缩液和乙醇溶解的萃取物以 1/100

体积加入接种铜绿微囊藻 PCC7806 OD_{650} 约 0.300 左右的铜绿微囊藻 PCC7806 培养液中, 25℃ 光照培养, 光强 4000 lx, 光照周期 12h/12h, 4d 后测定铜绿微囊藻 PCC7806 叶绿素 a 的变化。

2 结果与讨论

2.1 海洋放线菌株分离与筛选

由图 1 可见, 对所有分离获得的放线菌菌株测定后发现, 菌株 YC0412 的发酵液具有很高的抑杀微囊藻活性。加入发酵液 3d 后, 铜绿微囊藻 PCC7806 全部发黄死亡。

2.2 YC0412 对不同藻的生长影响

由图 2 可见, 与 CK1 相比, 小球藻、栅藻、鱼腥藻 PCC7120、铜绿微囊藻 PCC7806 和集胞藻 PCC6803 的叶绿素 a 含量分别降低了 32.4%、12.46%、32.9%、82.19% 和 32.57%。由此可见, YC0412 的发酵液对微囊藻有相对较强的抑杀作用, 同时其抑藻作用具有广谱性。

2.3 菌株的鉴定

2.3.1 菌株的形态特征

YC0412 菌株菌落表面崎岖, 菌落较小, 呈粉状, 结合 YC0412 菌株菌丝显微镜照片和孢子电镜照片可以看出, YC0412 菌株孢子丝丰富, 直或波曲, 基丝无色或淡黄色, 无可溶性色素, 孢子呈椭圆形, 表面光滑, 具有典型的链霉菌形态特征。按照链霉菌的分群程序^[10]: YC0412 菌株孢子不自溶, 无吸水现象。孢子非轮生而是单生枝, 孢子堆草黄色, 孢子丰富有强烈的泥土味道, 属于球孢类群。

2.3.2 菌株的培养特征和理化特征

YC0412 菌株的培养特征见表 1, 生理生化特征见表 2。

2.3.3 菌株的细胞壁氨基酸组分和全细胞水解液糖组分分析

对 YC0412 细胞壁氨基酸组分和细胞壁糖组成采用纤维素薄板层析分析, 结果显示 YC0412 菌株的细胞壁含有丙氨酸、谷氨酸、甘氨酸、天冬氨酸和 L, L-二氨基庚二酸, 细胞壁类型属于 I 型; YC0412 的细胞壁中含有核糖和葡萄糖而无鼠李糖和木糖等特征性糖, 糖类型属于 C 型, 符合链霉菌属的细胞壁类型。

2.3.4 16SrDNA 的扩增和测序结果

对菌株 YC0412 进行 16S rRNA 基因 PCR 扩增, 获得一条单一的 DNA 条带, 约为 1.4kb, 与链霉菌属已知菌株 16S rDNA 的片段大小相符(测序结果为 1405bps)。

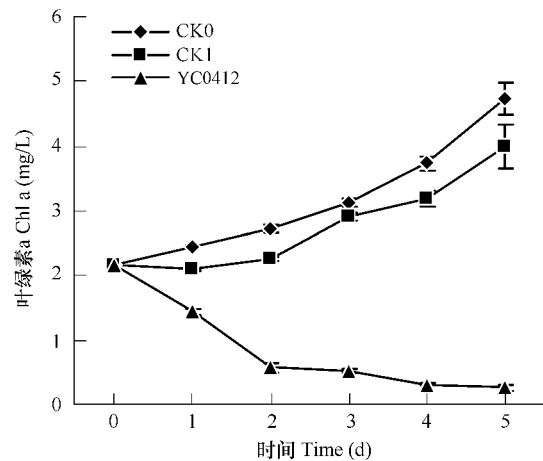


图 1 YC0412 菌株发酵液对铜绿微囊藻 PCC7806 的生长抑制

Fig. 1 Inhibition of culture broth of YC0412 on *M. aeruginosa* PCC7806

CK0: 加入放线菌培养基高氏一号的对照; Control, adding the fresh GAU medium; CK1: 加入另一株无杀藻作用的放线菌发酵液的对照; Control, adding culture broth of an actinomycetes without toxicity to *M. aeruginosa*

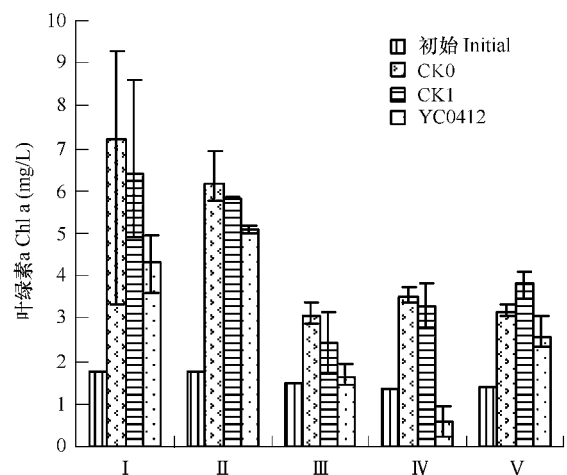


图 2 YC0412 的活性成分对不同微藻的影响

Fig. 2 Effects of the active substance of YC0412 on different microalgae

CK0: 加入放线菌培养基高氏一号的对照; Control, adding the fresh GAU medium; CK1: 加入另一株无杀藻作用的放线菌发酵液的对照; Control, adding culture broth of an actinomycetes without toxicity to *M. aeruginosa*.

I 椭圆小球藻 (*C. ellipsoidea*); II 栅藻 (*Scenedesmus* sp.); III 鱼腥藻 PCC7120 (*Anabaena* sp. PCC7120); IV 铜绿微囊藻 PCC7806 (*M. aeruginosa* PCC7806); V 集胞藻 PCC6803 (*Synechocystis* sp. PCC6803)

表1 YC0412 菌株在不同培养基上的培养特征

Table 1 Culture characteristics of YC0412 on different media

培养基 Media	气丝 Gas filament	基丝 Basal filamentpigment	可溶性色素 Solubility
高氏一号合成琼脂 Gause defined agar No. 1	草黄色 Grass yellow	微黄 Tiny yellow	无 None
察氏琼脂 Czapek Dox agar	乳脂色 Milky white	微黄 Tiny yellow	无 None
克氏合成1号琼脂 Clinton defined agar No. 1	白 White	微黄 Tiny yellow	无 None
淀粉铵盐培养基 Ammonium salt starch agar	灰黄 Dust yellow	淡咖啡色 Tiny coffee	无 None
无机盐淀粉培养基 Mineral salt starch agar	淡黄 Tiny yellow	淡黄 Tiny yellow	无 None
马铃薯培养基 PVA	淡黄 Tiny yellow	微褐 Tiny brown	微褐 Tiny brown
马铃薯浸汁琼脂 Potato dextrose agar	淡红灰 Tiny disheartened red	红灰 disheartened red	无 None
伊莫松培养基 Emerson agar	白 White	黄 yellow	无 None

将所得的序列用 Blast 在 GenBank 数据库进行相似性分析,结果发现在 GenBank 中与本试验菌株 YC0412 菌株 100% 相同的有 4 个种,其他种均 99% 相同,均为放线菌目 (Actinomycetales),链霉菌科 (Streptomycetaceae),链霉菌属 (*Streptomyces*)。

由上表可知,与 YC0412 菌株的 16S rRNA 基因序列 100% 相同的有 4 种链霉菌,均属于链霉菌属,其分别为灰霉素链霉菌 (*S. griseinus*),梅玖兰链霉菌 (*S. mediolani*),浅多色链霉菌 (*S. pluricologrescens*) 和白酒红链霉菌 (*S. rubiginosohelvolus*)。通过与 YC0412 菌株的菌株形态,特征培养基上的培养特征和生理生化特征的比较,能较明显的看出梅玖兰链霉菌 (*S. mediolani*),浅多色链霉菌 (*S. pluricologrescens*) 和白酒红链霉菌 (*S. rubiginosohelvolus*) 与 YC0412 菌株有较大差别,而灰霉素链霉菌 (*S. griseinus*) 与 YC0412 菌株的菌株形态,特征培养基上的培养特征和生理生化特征基本一致,因此将 YC0412 菌株定为灰霉素链霉菌 (*S. griseinus*)。

从 Genbank 中查找获得的多种链霉菌 16S rDNA

序列,并构建了系统发生树(图4)。从图中结果可见,最上一枝 14 株具有非常高的相似性,但却属于 9 个不同的种;尽管形态和生理上 YC0412 与 *S. pluricologrescens* 有一定差距,但遗传距离却最近。产生这一结果的原因可能是种间 16S rDNA 的变异性相对太小所致。系统发生树的结构如图 4 所示。

2.4 放线菌发酵液活性成分的粗分离结果

由图 5 可见,用乙酸乙酯和氯仿萃取后的 YC0412 菌株的脂溶性成分对铜绿微囊藻 PCC7806 有一定程度的抑制作用,与对照相比,铜绿微囊藻 PCC7806 4d 后的叶绿素 a 含量分别下降了 88.0% 和 82.8%。通过比较可以看出,乙酸乙酯可以更好地将 YC0412 菌株的有效成分从发酵液中抽提到 YC0412 菌株的脂相中。因此,其杀藻活性产物应该是一种极性较小的脂溶性物质,其化学结构有待进一步研究分析。

3 讨论

海洋放线菌是一类重要的微生物资源,自 20 世纪 70 年代东京微生物化学研究所从海洋放线菌 *Chainia* sp. 分离到抗生素 SS-228Y 以来,人们从海洋放线菌中陆续发现上百种结构新颖的强生理活性物质,其中

表2 YC0412 菌株的生理生化特征

Table 2 Physiological and biochemical characteristics of YC0412

生理生化反应	YC0412
明胶液化 Liquefaction of gelatin	++
牛奶凝固与陈化 Solidification of milk	+
淀粉水解 Hydrolysis of starch	++
纤维素生长 Grow of cellulose	-
H ₂ S 产生 Product of H ₂ S	-
黑色素产生 Product of melanin	-
硝酸酶还原 Nitrate reductase	+
45℃ 生长 45℃ growth	-
碳源利用 Carbon utility	
葡萄糖 Dextrose	++
D-木糖 D-xylose	+
D-甘露糖 D-mannose	++
蔗糖 Sucrose	-
麦芽糖 Maltose	++
半乳糖 Galactose	-
阿拉伯糖 Arabinose	±
乳糖 Lactose	±
果糖 Fructose	++

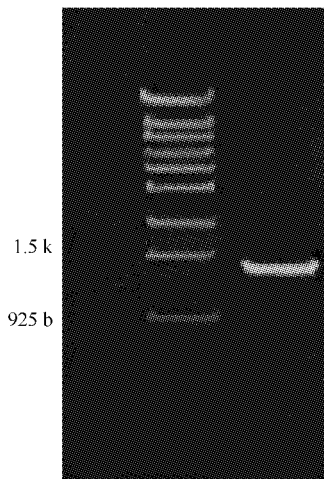


图3 YC0412 菌株 16S rDNA PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳图谱
Fig. 3 Agarose gel electrophoresis of PCR products of 16S rDNA gene in Strain YC0412

表 3 几种链霉菌 16S rDNA 序列相似性
Table 3 Similarities of 16S rDNA sequences of several *Streptomyces* species

种名 Specific name	序列号 Serial number	相似度(%) Identity
<i>S. griseinus</i>	AB184205.1	100
<i>S. mediolani</i>	AB184674.1	100
<i>S. rubiginosohelvolus</i>	AB184240.1	100
<i>S. pluricologrescens</i>	AB184262.1	100
<i>S. albovinaceus</i>	AB249958.1	99
<i>S. anulatus</i>	AB184875.1	99
<i>S. olivaceus</i>	AB184793.1	99
<i>S. sindenensis</i>	AB184683.1	99
<i>S. praecox</i>	AB184293.1	99
<i>S. anulatus</i>	AB184195.1	99
<i>S. flaveus</i>	AB184083.1	99
<i>S. parvus</i>	AB184756.1	99
<i>S. badius</i>	AB184114.1	99
<i>S. californicus</i>	AB184755.1	99
<i>S. viridochromogenes</i>	AB184088.1	99
<i>S. tricolor</i>	AB184759.1	99

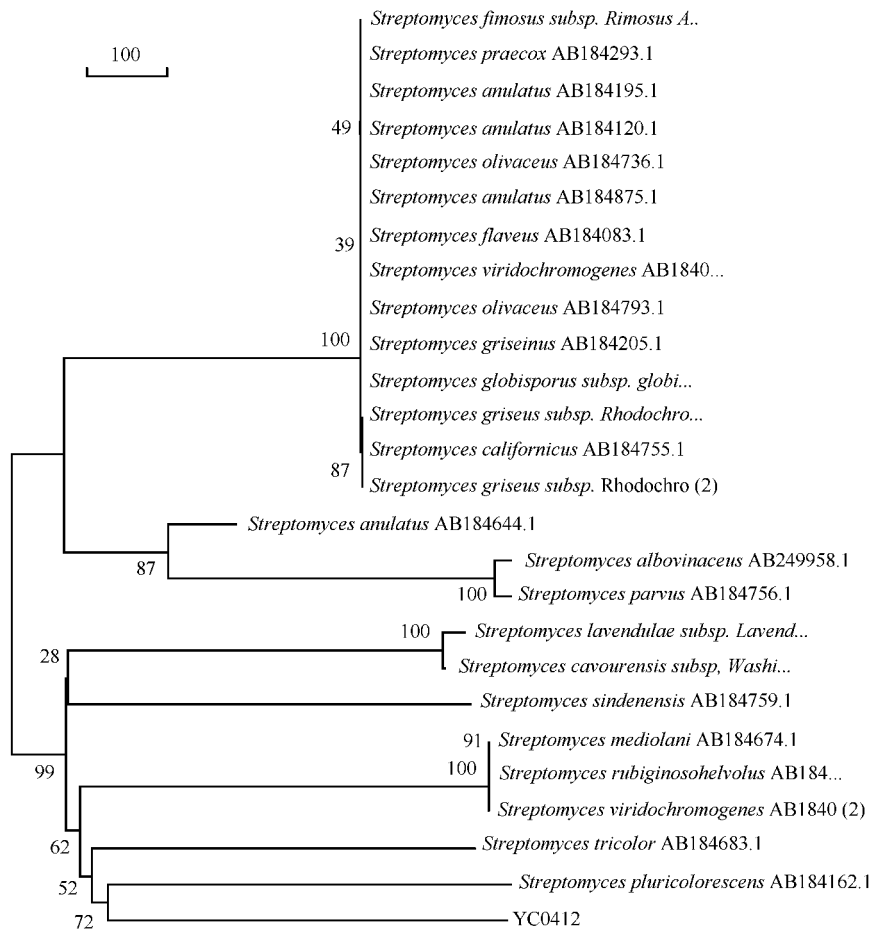


图4 采用NJ法构建的系统进化树
Fig. 4 Phylogenetic tree based on 16s rDNA sequences of *Streptomyces* species by neighbor-joining method

90% 以上产生于放线菌中的链霉菌属^[16]。我国海域辽阔,蕴藏着丰富的海洋资源,从海洋放线菌中寻找结构新颖的生物活性物质具有得天独厚的优势^[17,18],故本文用铜绿微囊藻作为靶菌株筛选江苏海洋滩涂土壤中

的放线菌,期待获得一种或几种高效抑杀微囊藻的物质。

蓝藻的水华的消长与拮抗微生物种群有关^[19]通过微生物控制的途径消除水华已引起国内外学者日益关注^[20]。早期就有人从水体和土壤中分离到了蓝藻的放线菌拮抗物,后来又有人从土壤中分离放线菌,用其培养物滤液抑制微生物生长,并发现部分放线菌可以通过分泌胞外产物而导致几种蓝藻、绿藻、真菌和细菌的裂解^[21]。Yamamoto 报道了 1 种海洋放线菌释放 L-赖氨酸,在质量浓度为 5000 ng/ml 时能抑制微囊藻的生长^[22],Choi 等人筛选到 1 株放线菌(*S. neyagawaensis*),其可以很好地抑制水华微囊藻的生长^[23]。本文所筛选到的放线菌 YC0412 的发酵液能够很好的抑杀微囊藻、小球藻、栅藻、鱼腥藻等引起水华发生或水体污染的藻类,对活性物质性质的初步研究显示,通过乙酸乙酯抽提可将发酵液中的有效成份有效地提取出来,这为有效地大量提取纯化获得高效抑杀水华藻类的物质提供了可能。

4 结论

4.1 从土壤中筛选到 1 株具有很高抑杀微囊藻活性的

放线菌 YC0412,对小球藻,栅藻,鱼腥藻 PCC7120 和集胞藻 PCC6803 等引起水华发生的种类均有抑杀作用。

4.2 结合菌株的形态和生理生化特征,以及 16S rDNA 序列的比对结果,放线菌 YC0412 为灰霉素链霉菌(*S. griseinus*)。

4.3 YC0412 产生的杀藻活性产物是一种弱极性脂溶性物质。

References:

- [1] Kong F X, Gao G. Hypothesis on cyanobacteria bloom-forming mechanism in large shallow eutrophic lakes. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25 (3): 589—595.
- [2] Zhao M X, Han B P. Analysis of factors affecting cyanobacteria bloom in a tropical reservoir (Tangxi Reservoir, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25 (7): 1554—1561.
- [3] Yan H, Pan G, Zhang M M. Advances in the study of microcystin toxin. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22 (11): 1968—1975.
- [4] Zhang Q, Li D J. The preliminary study on the solving process of cyanophyta in the lake of Taoran Pavilion Park. *Journal of Chinese Landscape Architecture*, 2002, 18 (2): 54—56.
- [5] Tang X C, Song L R, Shen Y W, Liu M, Liu Y D. Study of phycophages from *Microcystis* sp. in Lake Dianchi. *South-west China. Journal of Microbiology*, 2003, 23 (3): 50—52.
- [6] Yan H, Deng Y M, Zou H, Li X L, Ye C M. Isolation and activity of bacteria for the biodegradation of Microcystins. *Environmental Science*, 2004, 25 (6): 49—53.
- [7] Jiang C L, Xu L H. In: *The Study of Microbial Resources*. Beijing: Chinese Scientific & Technological Press, 1997.
- [8] Hua R C. In: *The Cultivation and Use of Single-cell Algae*. Beijing: China Agriculture Press, 1986.
- [9] Zou Q. In: *Plant Physiology Experimental Guidance*. Beijing: China Agriculture Press, 2002. 72—75.
- [10] Actinomycosis Classification Section of AS. In: *The Manual of Streptomyces Identification*. Beijing: Chinese Scientific & Technological Press, 1975.
- [11] Wan J S, Waksman. In: *Actinomycosis-the Classification, Identification and Description of Genera and Species*. Beijing: Chinese Scientific & Technological Press, 1974.
- [12] Wang P. The fast method to determine the concent of amino acids and monosaccharide of actinomycosis cells-TLC. *Identification of Actinomycosis*

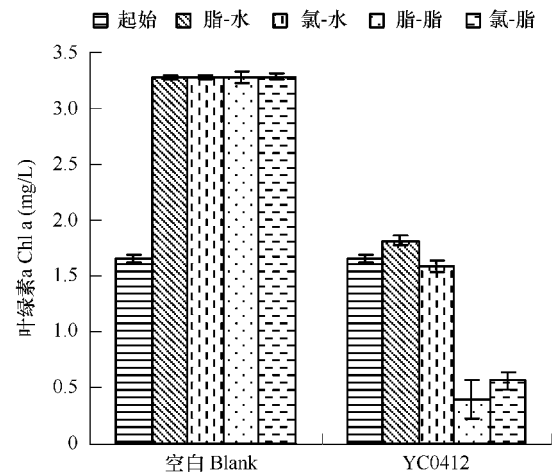


图5 氯仿和乙酸乙酯抽提物的活性比较

Fig. 5 The comparison of active factors extracted by chloroform and ethyl acetate

脂-水为乙酸乙酯抽提剩余的水溶性成分; Products remained after being extracted by ethyl acetate; 氯-水为氯仿抽提剩余的水溶性成分; Products remained after being extracted by Chloroform; 脂-脂为乙酸乙酯抽提所得的脂溶性成分; Products extracted by ethyl acetate; 氯-脂为氯仿抽提所得的脂溶性成分; Products extracted by Chloroform

Microbiology, 1986, 13(5): 228—231.

- [13] Lechebali H A. Special Publication N. 6. In: Deitz A ed. The society for Industrial Microbiology. Arlington: V A, 1980. 227—291.
- [14] Jiang C L, Xu L H, Xu Z X. In: Xu Z X ed. The Study of Actinomycosis Taxonomy. Kunming: Yunnan University Press, 1995. 36—37.
- [15] Xu P, Li W J, Xu L H, Jiang C L. Comparison of three PCR template preparation methods for rapid identification of actinobacteria. Chinese Journal of Antibiotics, 2003, 28(7): 388—390.
- [16] Jiang Y, Tang S K, Wang Y X, Li W J, Xu L H. The separation method of marine actinomycete. Microbiology Report, 2006, 33(6): 153—155.
- [17] Wang S J, Hu J C, Xue D M, Ma C X, Xie Q H, Liu Q Y. Study of marine microbial resources in Huanghai, Bohai and Liaoning offshore of China. Journal of Jinzhou Normal College (Natural Science Edition), 2001, 22(1): 2—5.
- [18] Umezawa H. Marinactar antitumor polysaccharide produced by marine bacteria. Antibiotics, 1983, 3(6): 471—477.
- [19] Ahn C Y, Joung S H, Jeon J W, Kim H S, Yoon B D, Oh H M. Selective control of cyanobacteria by surfactin-containing culture broth of *Bacillus subtilis* C1. Biotechnol. Lett, 2003, 25(14): 1137—1142.
- [20] Sigee D C, Glenn R, Andrews M J, Bellinger E G, Butler R D, Epton H A S, R D Hendry. Biological control of cyanobacteria: principles and possibilities. Hydrobiologia, 1999, 395/396: 161—172.
- [21] Xiao C Q, Jiang H, Cheng K, Zhao Y J. Selection of algalyzing actinomycetes AN02 and optimization of its cultural conditions. J Microbiol, 2007, 27(4): 11—14.
- [22] Yamamoto Y, Kouchiwa T, Hodoki Y. Distribution and identification of actinomycetes lysing cyanobacteria in a eutrophic lake. J App Phycol, 1998, 10(2): 391—397.
- [23] Choi H J. *Streptomyces neyagawaensis* as a control for the hazardous biomass of *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria) in eutrophic freshwaters. Biological Control, 2005, 3(2): 335—343.

参考文献:

- [1] 孔繁翔, 高光. 大型浅水富营养化湖泊中蓝藻水华形成机理的思考. 生态学报, 2005, 589—595.
- [2] 赵孟绪, 韩博平, 汤溪水库蓝藻水华发生的影响因子分析. 生态学报, 2005, 25(7): 1554—1561.
- [3] 闫海, 潘纲, 张明明. 微囊藻毒素研究进展. 生态学报, 2002, 22(11): 1968—1975.
- [4] 张青, 李东娟. 陶然亭公园湖水的蓝藻治理初探. 中国园林, 2002, 18(2): 54—56.
- [5] 汤显春, 宋立荣, 沈银武, 刘梅, 刘永定. 滇池微囊藻病毒溶藻的研究. 微生物学杂志, 2003, 23(3): 50—52.
- [6] 闫海, 邓义敏, 邹华, 李贤良, 叶常明. 降解微囊藻毒素菌种的筛选和活性研究. 环境科学, 2004, 25(6): 49—53.
- [7] 姜成林, 徐丽华. 见: 微生物资源学. 北京: 科学出版社, 1997.
- [8] 华汝成. 见: 单细胞藻类的培养与利用. 北京: 中国农业出版社, 1986.
- [9] 邹琦. 见: 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业出版社, 2002. 72—75.
- [10] 中国科学院微生物研究所放线菌分类组. 见: 链霉菌鉴定手册. 北京: 科学出版社, 1975.
- [11] 阮继生, 瓦克斯曼. 见: 放线菌——属和种的分类、鉴定和描述. 北京: 科学出版社, 1974.
- [12] 王平. 测定放线菌菌体中氨基酸和单糖的快速方法——薄层层析法. 微生物学通报, 1986, 13(5): 228—231.
- [14] 姜成林, 徐丽华. 见: 许宗雄主编放线菌分类学. 昆明: 云南大学出版社, 1995. 36—37.
- [15] 徐平, 李文均, 徐丽华, 姜成林. PCR快速鉴定 actinobacteria 三种模板制备方法的比较. 中国抗生素杂志, 2003, 28(7): 388—390.
- [16] 姜怡, 唐蜀昆, 王永霞, 李文均, 徐丽华. 海洋放线菌分离方法. 微生物学通报, 2006, 33(6): 153—155.
- [17] 王书锦, 胡江春, 薛德林, 马成新, 谢秋宏, 刘全永. 中国黄、渤海、辽宁近海地区海洋微生物资源的研究. 锦州师范学院学报, 2001, 22(1): 2—5.
- [21] 肖慈琼, 姜红, 程凯, 赵以军. 溶藻放线菌 AN02 的筛选及其培养条件的优化. 微生物学杂志, 2007, 27(4): 11—14.