

DOI: 10.12264/JFSC2024-0044

蜡样芽孢杆菌 TC-1 对硫酸盐型盐碱水的生长适应性及其对微囊藻的溶藻效果

江昀珈^{1,2}, 胡晓娟^{2,3}, 杨铨^{2,4,5}, 曹煜成^{2,3}, 许云娜², 徐创文^{2,4}, 张建设¹, 文国樑^{1,2}

1. 浙江海洋大学国家海洋设施养殖工程技术研究中心, 浙江 舟山 316022;
2. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业农村部南海渔业资源开发利用重点实验室, 广东省渔业生态环境重点实验室, 广东 广州 510300;
3. 南方海洋科学与工程广东省实验室(珠海), 广东 珠海 519000;
4. 广州市欣海利生物科技有限公司, 广东 广州 510300;
5. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090

摘要: 为研究蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)菌株 TC-1 在不同环境条件下的生长适应性及其对两种微囊藻的溶藻效果, 开展了不同盐度、pH、温度、碱度条件下菌株的生长适应性研究, 并探究其在最适生长条件下, 菌株 TC-1 对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)和微囊藻(*Microcystis* sp.)的溶藻效果。结果发现, 菌株 TC-1 在盐度 5~35、pH 6.0~10.0、温度 20~40 °C、碱度 4.0~16.0 mmol/L 的条件下生长良好, 尤其在盐度 15、pH 8.0、温度 30 °C、碱度 12.0 mmol/L 的条件下生长最好, 第 8 天时细菌密度可达 $(1.14\pm0.16)\times10^8$ CFU/mL。在碱度 4.0 mmol/L 和 12.0 mmol/L 的盐碱水-BG11 培养液共培养体系中, 溶藻菌株 TC-1 对两种微囊藻的溶藻效果显著, 第 6 天时菌株 TC-1 对铜绿微囊藻和微囊藻的溶藻率分别可达 $(82.83\pm0.03)\%$ 和 $(91.67\pm0.10)\%$ 。结果表明, 菌株 TC-1 对盐度、pH、温度、碱度等环境因子具有良好的适应性, 与大部分盐碱池塘水体的盐度、温度、pH 的变动区间大体一致; 其对微囊藻的溶藻效果良好, 可作为盐碱池塘水体防控微囊藻藻华菌剂产品的备选菌株。

关键词: 盐碱体系; 溶藻菌; 微囊藻; 蜡样芽孢杆菌; 盐碱水

中图分类号: X52

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2024)08-0954-12

我国盐碱水资源分布广泛, 盐碱水高 pH 和高碳酸盐碱度的特点易导致水体中化学物质失衡, 高离子系数和离子比例失衡易导致水体盐分过高^[1], 水质调控成为盐碱池塘水产健康养殖的要点和难点^[2]。然而, 夏季盐碱池塘由于温度高、日照时间长、养殖中后期水体有机质高, 易形成以微囊藻(*Microcystis* spp.)为主的有害蓝藻藻华^[3], 导致水

质恶化, 对对虾等养殖生物的生长和产量造成严重影响^[4]。宁夏回族自治区位于中国西北地区, 其地理环境独特, 水资源具有明显的盐碱特征, 养殖池塘多为硫酸盐型盐碱池塘。邱小琮等^[5]报道了宁夏沙湖浮游微藻种类的季节性变化规律, 发现夏季和秋季蓝藻在浮游微藻群落中占据了绝对的优势地位。刘锦帆等^[6]研究发现, 宁夏地区部分

收稿日期: 2024-03-16; 修订日期: 2024-04-23.

基金项目: 国家重点研发计划项目(2023YFD2401002); 中国水产科学研究院基本科研业务费专项资金项目(2023TD57); 国家虾蟹产业技术体系项目(CARS-48).

作者简介: 江昀珈(1997–), 女, 硕士研究生, 研究方向为微生物环境调控. E-mail: bjyc9e@163.com

通信作者: 文国樑, 研究员, 研究方向为水产健康养殖 E-mail: gwowen66@163.com; 张建设, 教授, 研究方向为海洋生物资源与保护 E-mail: zhangjianshe@zjou.edu.cn

养殖池塘存在蓝藻过度繁殖的问题,特别是夏季养殖池塘中蓝藻水华频发。浮游微藻的群落结构与养殖池塘水质及养殖生物的健康生长密切相关^[7-8]。曹煜成等^[9]认为当养殖池塘中的绿藻类和硅藻类成为优势种群时水质较为稳定,鱼虾等养殖生物的危害发生率低,生长环境更为优越。若池塘中暴发微囊藻等有害藻华,不仅会消耗水体大量的溶氧,导致鱼虾缺氧大量死亡,还会产生藻毒素等有毒物质,威胁鱼虾等养殖生物的生命安全^[10-11]。据统计,世界上25%~75%的蓝藻水华都会产生藻毒素。藻毒素可致对虾急性死亡^[12],其中以微囊藻毒素最为严重^[13-14]。Cao等^[15]研究发现,如果在养殖过程中形成以颤藻等有害蓝藻为优势的藻相,会严重影响对虾的产量。因此,为了保障养殖产量及产品质量安全,应密切关注池塘中微藻藻相变化,及时采取措施调控水质,防控有害蓝藻暴发,维持养殖池塘生态系统的稳定。

目前,防控和治理有害蓝藻的手段主要有物理法、化学法、生物法^[16]。然而,物理和化学方法存在诸多局限,防控藻华存在费时费力、污染严重、容易复发等问题^[17],因此,生物治藻逐渐受到关注,成为当前环境治理的重要手段^[18]。溶藻菌具有抑制藻类生长,或杀死藻类、溶解藻细胞的功能^[19],在调控水体藻相、维持水体营养平衡等方面发挥着重要作用,而且具有高效、安全等特点,是当前研究的热点之一^[20-21]。当前对于溶藻菌的研究多是针对淡水水华、海洋赤潮、海水池塘等开展的溶藻细菌分离、鉴定及作用方式研究^[22-26],但盐碱池塘具有不同于淡水和海水池塘的环境特异性,针对盐碱池塘环境溶藻菌的相关研究少见报道^[3]。开展土著溶藻菌的生态适应性及其功能特性评价,对于盐碱专用溶藻菌剂的研发具有重要意义。

因此,本研究选取课题组从宁夏回族自治区盐碱池塘水体微藻环境中分离筛选的1株具有溶藻效果的蜡样芽孢杆菌 TC-1,研究其在不同盐度、pH、温度、碱度条件下的生长适应性,探究其在最适生长条件下对两种微囊藻的溶藻效果,分析菌株的环境适应性、生态功能,以期为盐碱池塘水体微囊藻防控的实际应用提供菌种

资源。

1 材料与方法

1.1 实验菌种

蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)菌株 TC-1 由中国水产科学研究院海水池塘养殖生态环境调控创新团队提供,分离自宁夏回族自治区银川市贺兰县盐碱池塘水体微藻环境,原水体环境为盐度 0~2, pH 7.8~9.3, 温度 26.5 °C~29.5 °C。前期研究表明,菌株 TC-1 对微囊藻具有显著的溶藻效果^[27]。

1.2 实验藻种

本研究选用的铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)和微囊藻(*Microcystis* sp.)来自中国水产科学研究院海水池塘养殖生态环境调控创新团队。采用 BG11 培养液,在温度(28±1) °C、光照强度 2000~2500 lx、光暗周期 12 h : 12 h 条件下进行培养。在室内培养时,铜绿微囊藻呈单细胞分散形态^[23],微囊藻为多细胞成团形态。

1.3 培养基及实验体系

种子培养液采用营养肉汤培养液:蛋白胨 10 g,牛肉膏 3 g,氯化钠 5 g,蒸馏水 1 L。营养琼脂培养基在此基础上增加琼脂 20 g。蜡样芽孢杆菌的细菌密度测定采用蜡样芽孢杆菌的选择性培养基——甘露醇卵黄多黏菌素琼脂平板(MYP)^[27],具体配方为蛋白胨 10 g,牛肉膏 1 g,D-甘露醇 10 g,氯化钠 10 g,酚红 0.026 g,50%卵黄液 50 mL,多黏菌素 B 100000 IU,琼脂 15 g,蒸馏水 950 mL。

硫酸盐型盐碱水体系为:Na₂SO₄ 2.365 g,NaCl 0.537 g,MgCl₂ 0.562 g,NaHCO₃ 0.318 g,CaCl₂ 1.113 g,KCl 0.029 g,葡萄糖 5 g,饲料浸出液 40 mL,蒸馏水 1 L。饲料浸出液的配制方法为取市售对虾饲料 100 g 研磨成粉后,加入 1 L 蒸馏水,于 30 °C 恒温培养箱中静置 24 h,取上清液,按 40 mL/L 加入盐碱水体系。实验所用培养基均采取 121 °C 灭菌 20 min。

菌藻共培养体系:25 mL 硫酸盐型盐碱水、21.5 mL BG11 培养液或改良 BG11 培养液、3 mL 藻液、0.5 mL 菌液或无菌水,共 50 mL。其中 BG11 培养液的配方为 NaNO₃ 1.5 g, K₂HPO₄ 40 mg,

MgSO₄·7H₂O 75 mg, CaCl₂·2H₂O 36 mg, 柠檬酸 6 mg, 柠檬酸铁铵 6 mg, Na₂EDTA 1 mg, Na₂CO₃ 80 mg, A5 溶液 1 mL, 蒸馏水 999 mL。其中 A5 溶液: H₃BO₃ 286 mg, MnCl₂·H₂O 186 mg, ZnSO₄·7H₂O 22 mg, Na₂MoO₄·2H₂O 39 mg, CuSO₄·5H₂O 8 mg, Co(NO₃)₂·6H₂O 5 mg, 蒸馏水 100 mL, 用于微囊藻的培养。改良 BG11 培养液是在 BG11 培养液的基础上将蒸馏水改为盐度 5 的海水, Na₂CO₃ 的添加量改为 40 mg, 用于铜绿微囊藻的培养。

1.4 菌株 TC-1 在不同环境条件下的生长适应性

1.4.1 不同盐度的生长适应性 将菌株 TC-1 活化后培养至对数生长期, 调整硫酸盐型盐碱水体系的盐度分别为 5、15、25、35, 按照 0.1% 的接种量添加种子液, 初始细胞密度为 10⁵ CFU/mL。每个盐度梯度组设置 3 个平行。30 ℃、200 r/min 恒温摇床振荡培养, 第 0、2、4、6、8 天取样, 利用营养琼脂培养基进行平板菌落计数, 选择合适的稀释度, 每个稀释度涂布 3 次, 测定各组菌株 TC-1 的细菌密度。

1.4.2 不同 pH 的生长适应性 将菌株 TC-1 活化后培养至对数生长期, 调整硫酸盐型盐碱水体系的 pH 分别为 4.0、6.0、8.0、10.0, 盐度为 15, 按照 0.1% 的接种量添加种子液, 初始细胞密度为 10⁵ CFU/mL。每个 pH 梯度组设置 3 个平行。30 ℃、200 r/min 恒温摇床振荡培养至试验结束。第 0、2、4、6、8 天取样并测定各组的细菌密度。

1.4.3 不同温度的生长适应性 将菌株 TC-1 活化后培养至对数生长期, 调整培养温度分别为 10、20、30、40 ℃。盐度为 15、pH 为 8.0, 按照 0.1% 的接种量添加种子液, 初始细胞密度为 10⁵ CFU/mL。每个温度梯度组设置 3 个平行。200 r/min 恒温摇床振荡培养。第 0、2、4、6、8 天取样并测定各组的细菌密度。

1.4.4 不同碱度的生长适应性 将菌株 TC-1 活化后培养至对数生长期, 调整硫酸盐型盐碱水体系的碱度分别为 4.0、8.0、12.0、16.0 mmol/L。盐度为 15、pH 为 8.0, 按照 0.1% 的接种量添加种子液, 初始细胞密度为 10⁵ CFU/mL。每个碱度梯度组设置 3 个平行。30 ℃、200 r/min 恒温摇床振荡培养。第 0、2、4、6、8 天取样并测定各组

的细菌密度。

1.5 溶藻菌的溶藻效果研究

考虑菌株筛选的原生环境的碱度为 4 mmol/L 及其最适碱度条件(12 mmol/L), 以盐度 15、pH8 的硫酸盐型盐碱水为基底, 设置碱度分别为 4 mmol/L 和 12 mmol/L 的两组藻菌共培养体系。

铜绿微囊藻的初始数量为 8.46×10⁵ cell/mL, 微囊藻的初始数量为 7.72×10⁵ cell/mL。将菌株 TC-1 活化后培养至对数生长期。加菌组按 1% 接种量将菌株 TC-1 分别加入各组藻液中, 菌株初始细菌密度为 10⁶ CFU/mL。对照组以等体积的无菌水代替菌液, 每组设置 4 个平行。

将菌藻共培养液置于光照培养箱中培养(温度 28 ℃, 光照强度 2000~2500 lx, 光暗周期为 12 h : 12 h), 实验周期为 8 d。每 24 h 取样 1 次, 微藻样品采用 5% 甲醛溶液固定^[6], 在光学显微镜下观察藻细胞形态并用血球计数板计数^[26]。每 48 h 取样, 根据《食品微生物学检验蜡样芽孢杆菌检验》(GB 4789.14—2014)标准, 以甘露醇卵黄多黏菌素琼脂平板进行涂布, 计数蜡样芽孢杆菌的细菌密度^[28]。

1.6 溶藻率的计算

按以下公式计算溶藻率:

$$R = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100\%$$

式中, C_0 表示共培养体系中初始铜绿微囊藻或微囊藻藻密度(cell/mL); C_t 表示藻菌共培养至第 t 天时铜绿微囊藻或微囊藻的藻密度(cell/mL)。

1.7 数据处理

采用 WPS Office 11.1 Excel 处理实验数据并作图, 实验结果以平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示。统计分析采用 SPSS 20.0 软件, 利用单因素方差分析(one-way ANOVA)进行差异显著性分析, $P < 0.05$ 表示显著差异。

2 结果与分析

2.1 菌株 TC-1 在不同环境条件下的生长适应性

2.1.1 盐度适应性 在不同盐度的硫酸盐型盐碱水体系中, 菌株 TC-1 的细菌密度均能在 2 d 内从初始的 10⁵ CFU/mL 快速增长至最高值(图 1a), 表明菌株 TC-1 在 5~35 的盐度条件下均生长良好。

其中, 以盐度为 15 时最佳, 第 2 天细菌密度达 $(8.60 \pm 0.58) \times 10^7$ CFU/mL, 显著高于盐度为 5、25 和 35 组 ($P < 0.05$)。第 4 天之后, 各组的细菌密度无显著差异 ($P > 0.05$)。第 8 天, 盐度 5、15、25 和 35 组的细菌密度分别为 $(8.06 \pm 0.85) \times 10^6$ 、 $(1.74 \pm 0.51) \times 10^7$ 、 $(1.47 \pm 0.22) \times 10^7$ 和 $(1.22 \pm 0.02) \times 10^7$ CFU/mL。根据上述结果, 选择最佳盐度条件 15 进行后续研究。

2.1.2 pH 适应性 在不同 pH 的硫酸盐型盐碱水体系中, 菌株 TC-1 的细菌密度在 pH 6.0、8.0、10.0 条件下能在 2 d 内从初始的 10^5 CFU/mL 快速增长 (图 1b), 但在 pH 4.0 条件下细菌密度低, 表明菌株 TC-1 在 6.0~10.0 的 pH 条件下均生长良好。其中, 以 pH 8.0 时最佳, 第 6 天细菌密度达 $(9.90 \pm 0.83) \times 10^7$ CFU/mL, 显著高于 pH 4.0、6.0 和 10.0 组 ($P < 0.05$)。在 0~4 d 内, pH 6.0~10.0 各组的细菌密度无显著差异 ($P > 0.05$)。第 8 天时, pH 4.0、6.0、8.0 和 10.0 组的细菌密度分别为 $(2.29 \pm 0.26) \times 10^4$ 、 $(9.77 \pm 0.41) \times 10^6$ 、 $(7.00 \pm 0.79) \times 10^7$ 和 $(1.05 \pm 0.14) \times 10^7$ CFU/mL。根据上述结果, 选择最佳 pH 条件

8.0 进行后续研究。

2.1.3 温度适应性 在不同温度的硫酸盐型盐碱水体系中, 菌株 TC-1 的细菌密度在温度 20、30、40 °C 条件下能在 2 d 内从初始的 10^5 CFU/mL 快速增长至最高值 (图 1c), 但在温度 10 °C 条件下细菌密度呈下降趋势, 表明菌株 TC-1 在 20~40 °C 的温度条件下均生长良好, 尤以温度 30 °C 时最佳, 第 2 天细菌密度可达 $(1.15 \pm 0.12) \times 10^8$ CFU/mL, 显著高于其他组 ($P < 0.05$)。20 °C 和 40 °C 条件下第 2~6 天的平均细菌密度为 $(3.48 \pm 0.52) \times 10^7$ CFU/mL 和 $(5.37 \pm 0.64) \times 10^6$ CFU/mL。8 d 内各组的细菌密度差异显著 ($P < 0.05$)。第 8 天, 温度 10、20、30 和 40 °C 组的细菌密度分别为 $(4.83 \pm 0.89) \times 10^4$ 、 $(8.25 \pm 0.89) \times 10^6$ 、 $(1.23 \pm 0.18) \times 10^7$ 和 $(6.03 \pm 0.74) \times 10^5$ CFU/mL。根据上述结果, 选择最佳温度条件 30 °C 进行后续研究。

2.1.4 碱度适应性 在不同碱度的硫酸盐型盐碱水体系中, 菌株 TC-1 的细菌密度均能在 2 d 内从初始的 10^5 CFU/mL 快速增长 (图 1d), 表明菌株 TC-1 在 4.0~16.0 mmol/L 的碱度条件下均生长良

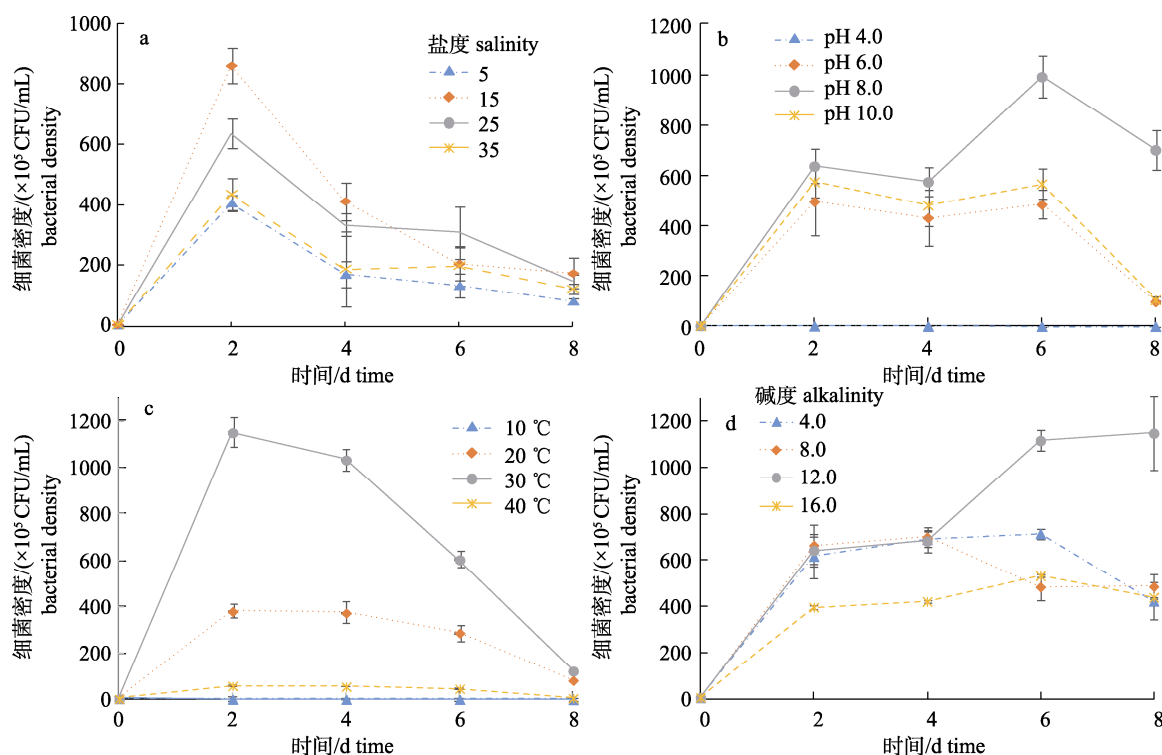


图 1 蜡样芽孢杆菌菌株 TC-1 在不同盐度(a)、pH (b)、温度(c)、碱度(d)下的细菌密度变化

Fig. 1 Changes of bacterial density of *Bacillus cereus* strain TC-1 under different salinity (a), pH (b), temperature (c), and alkalinity (d)

好。其中,以碱度 12.0 mmol/L 为最佳,第 6 天细菌密度可达 $(1.12 \pm 0.59) \times 10^8$ CFU/mL,与其他实验组差异显著($P < 0.05$),第 2 天之后,碱度 4.0、8.0 和 12.0 mmol/L 组的细菌密度无显著差异($P > 0.05$),与 16.0 mmol/L 组差异显著($P < 0.05$)。第 8 天,碱度 4.0、8.0、12.0 和 16.0 mmol/L 组的细菌密度分别为 $(4.23 \pm 0.80) \times 10^7$ 、 $(4.86 \pm 0.51) \times 10^7$ 、 $(1.14 \pm 0.16) \times 10^8$ 和 $(4.40 \pm 0.46) \times 10^7$ CFU/mL。考虑盐碱池塘的碱度梯度跨度大,结合上述结果分析,选择原生环境的碱度为 4.0 mmol/L 及其最适碱度条件(12.0 mmol/L)进行后续实验。

2.2 菌株 TC-1 对铜绿微囊藻和微囊藻的溶藻效果

2.2.1 菌株 TC-1 对藻细胞形态的影响

铜绿微囊藻对照组(TWD)在整个实验过程中藻细胞形态均始终保持完整(图 2a1、a2、a3)。将菌株 TC-1 加入碱度为 4.0 mmol/L 的共培养体系(TW)后,第 0 天,铜绿微囊藻细胞表面光滑,呈球状,藻细胞保持形态完整;第 2 天,加菌组藻细胞在菌株 TC-1 的作用下形态由轮廓清晰的绿色球状的初始正常状态,转变为出现部分藻细胞褪色、边缘

模糊变形等溶藻现象。第 8 天,藻细胞几乎全部被溶解、破裂,细胞色素减少(图 2b1、b2、b3)。

微囊藻对照组(WND)在整个实验过程中藻细胞形态均始终保持完整,呈群体形态,随着实验的进行,群体逐渐扩大,藻密度增加(图 3a1、a2、a3)。将菌株 TC-1 加入碱度为 4.0 mmol/L 的共培养体系(WN)后,微囊藻藻细胞在第 0 天呈现聚集状态。第 2 天,在菌株 TC-1 的作用下,部分藻细胞开始出现褪色现象,边缘变得模糊并发生变形。同时,观察到 TC-1 菌株聚集在藻团的外围。第 8 天,藻细胞全部被溶解,存在游离变形的细胞壁(图 3b1、b2、b3)。

2.2.2 藻密度变化

(1) 铜绿微囊藻 在以盐度 15、pH 8.0、碱度 4 mmol/L 的硫酸盐型盐碱水为基底的藻菌共培养体系下,铜绿微囊藻对照组(TWD)的藻密度从初始的 $(9.25 \pm 0.54) \times 10^5$ cell/mL 升至第 8 天的 $(1.53 \pm 0.05) \times 10^6$ cell/mL;加菌组(TW)铜绿微囊藻的藻密度呈显著下降趋势,从初始的 $(7.69 \pm 1.25) \times 10^5$ cell/mL 降至第 8 天的 $(4.38 \pm 0.13) \times 10^4$ cell/mL,显著低于对照组($P < 0.05$)(图 4)。

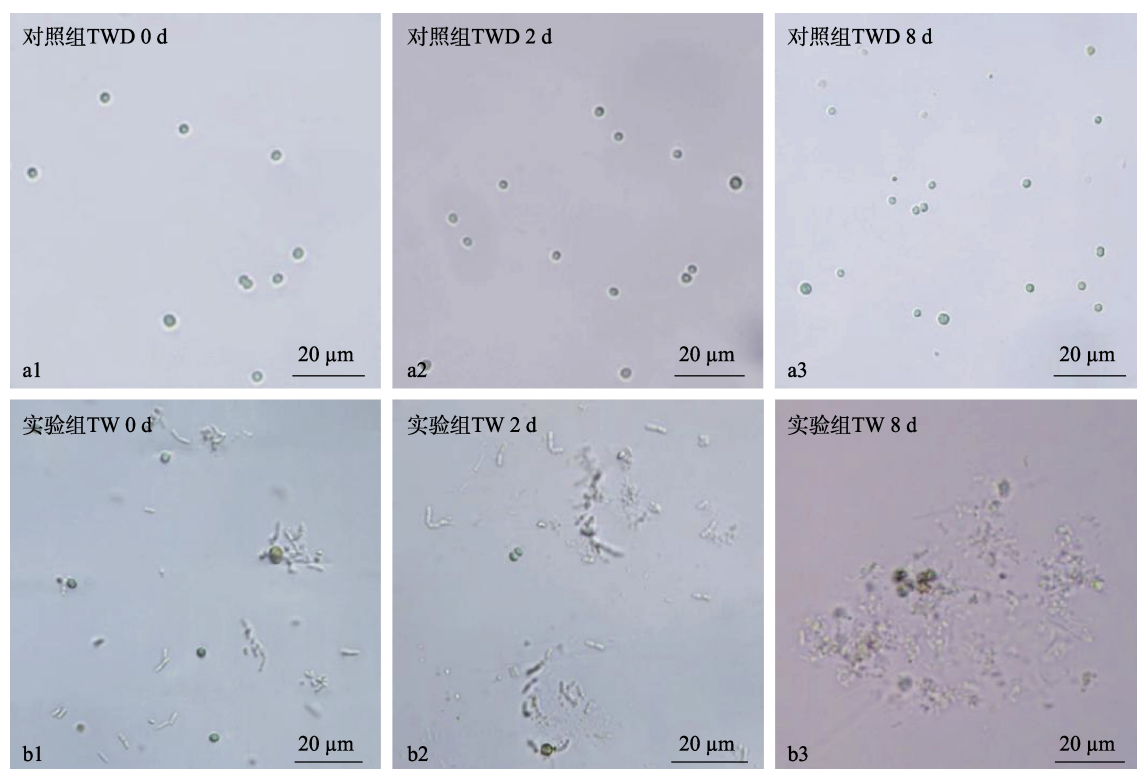


图 2 TC-1 加入碱度为 4.0 mmol/L 的藻菌共培养体系后铜绿微囊藻的藻细胞形态变化
Fig. 2 Morphology changes in algal cells of *Microcystis aeruginosa* in co-culture system with TC-1 strain under 4.0 mmol/L alkalinity

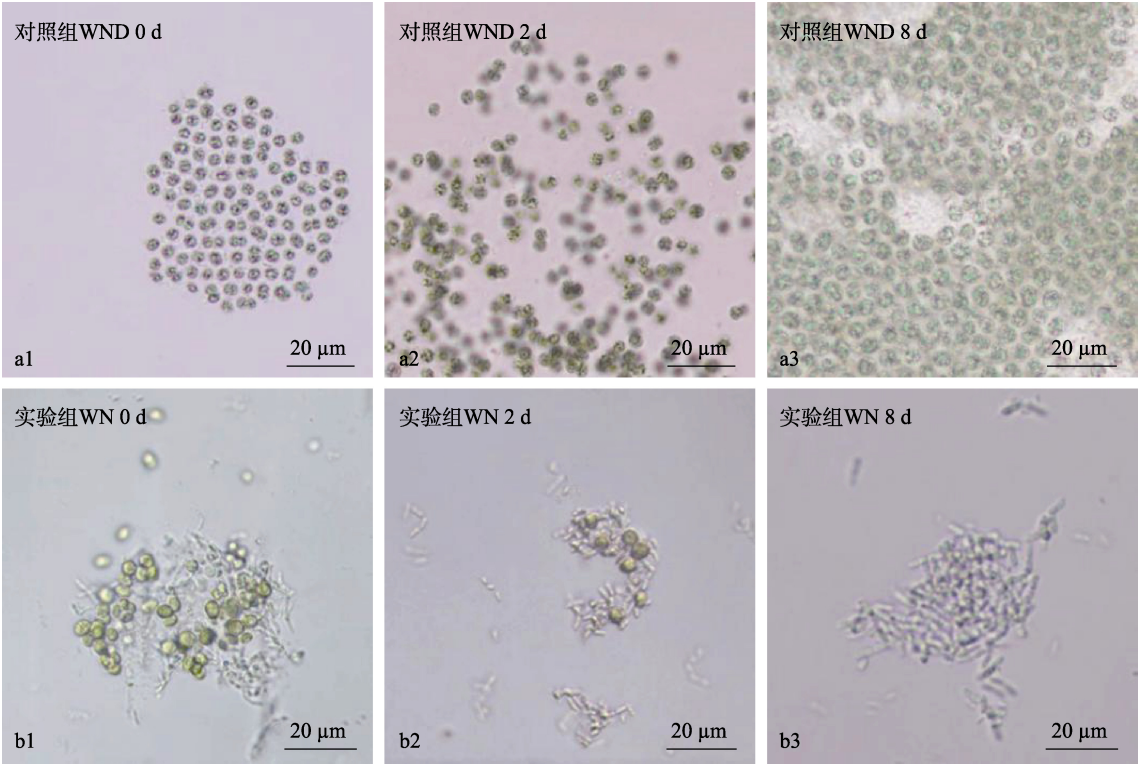


图 3 在碱度为 4.0 mmol/L 的与 TC-1 菌株共培养体系中微囊藻的藻细胞形态变化

Fig. 3 Morphology changes in algal cells of *Microcystis* sp. in co-culture system with TC-1 strain under 4.0 mmol/L alkalinity

在以盐度 15、pH 8.0、碱度 12.0 mmol/L 的硫酸盐型盐碱水为基底的藻菌共培养体系下，铜绿微囊藻对照组(TWD)的藻密度从初始的 $(9.13\pm 0.11)\times 10^5$ cell/mL 升至第 8 天的 $(1.29\pm 0.11)\times 10^6$ cell/mL；加菌组(TW)的藻密度呈显著下降趋势，从初始的 $(8.63\pm 0.85)\times 10^5$ cell/mL 降至第 8 天的 $(8.75\pm 0.48)\times 10^4$ cell/mL，显著低于对照组($P<0.05$)(图 4)。

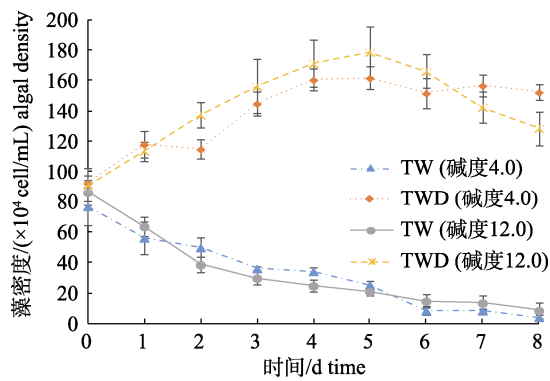


图 4 铜绿微囊藻与菌株 TC-1 在碱度 4 mmol/L、12 mmol/L 共培养条件下的藻密度

Fig. 4 Algal density of *Microcystis aeruginosa* at the alkalinity level of 4 mmol/L and 12 mmol/L in co-culture system with TC-1 strain

(2) 微囊藻 在以盐度 15、pH8.0、碱度 4.0 mmol/L 的硫酸盐型盐碱水为基底的藻菌共培养体系下，微囊藻对照组(WND)的藻密度从初始的 $(7.63\pm 0.25)\times 10^5$ cell/mL 升至第 8 天的 $(1.07\pm 0.06)\times 10^6$ cell/mL；加菌组(WN)的藻密度呈下降趋势，从初始的 $(7.94\pm 0.59)\times 10^5$ cell/mL 降至第 8 天的 $(5.63\pm 0.13)\times 10^4$ cell/mL，显著低于对照组($P<0.05$)(图 5)。

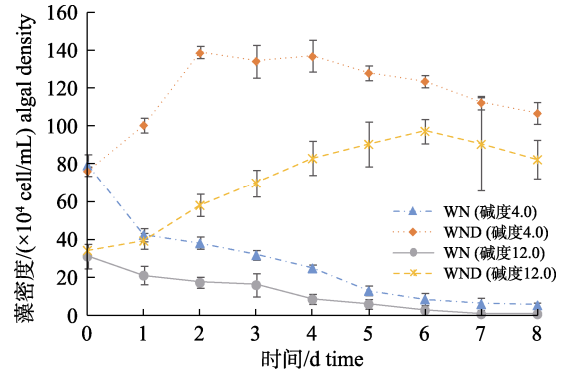


图 5 微囊藻与菌株 TC-1 在碱度 4 mmol/L、12 mmol/L 共培养条件下的藻密度

Fig.5 Algal density of *Microcystis* sp. at the alkalinity level of 4 mmol/L and 12 mmol/L in co-culture system with TC-1 strain

在以盐度 15、pH 8.0、碱度 12.0 mmol/L 的硫酸盐型盐碱水为基底的藻菌共培养体系下,微囊藻对照组(WND)的藻密度从初始的 $(3.44\pm 0.31)\times 10^5$ cell/mL 升至第 8 天的 $(8.25\pm 0.10)\times 10^5$ cell/mL;加菌组(WN)的藻密度呈下降趋势,从初始的 $(3.12\pm 0.63)\times 10^5$ cell/mL 降至第 8 天的 $(1.00\pm 0.00)\times 10^4$ cell/mL,显著低于对照组($P<0.05$) (图 5)。

2.3 溶藻率

铜绿微囊藻藻菌共培养体系与微囊藻藻菌共培养体系中各组的溶藻率如表 1 所示。在溶藻第 3 天时,4.0 mmol/L 碱度加菌组菌株 TC-1 对铜绿微囊藻的溶藻率为 $(51.62\pm 0.10)\%$,12 mmol/L 碱

度加菌组溶藻率达 $(64.88\pm 0.06)\%$,不同碱度组间差异显著($P<0.05$)。在第 8 天时,4.0 mmol/L 碱度加菌组和 12.0 mmol/L 碱度加菌组菌株 TC-1 对铜绿微囊藻的溶藻率分别达 $(94.16\pm 0.02)\%$ 和 $(92.84\pm 0.02)\%$,不同碱度组间无显著差异($P>0.05$)。

在溶藻第 3 天时,4.0 mmol/L 碱度加菌组菌株 TC-1 对微囊藻的溶藻率达 $(59.79\pm 0.02)\%$,在 12.0 mmol/L 碱度加菌组溶藻率为 $(49.38\pm 0.09)\%$,不同碱度组间差异显著($P<0.05$)。在第 8 天时,4.0 mmol/L 碱度加菌组和 12.0 mmol/L 碱度加菌组的溶藻率分别达到 $(92.84\pm 0.02)\%$ 和 $(100.00\pm 0.00)\%$,不同碱度组间无显著差异($P>0.05$)。

表 1 不同碱度条件下蜡样芽胞杆菌菌株 TC-1 对铜绿微囊藻和微囊藻的溶藻率
Tab. 1 Algae dissolving rate of *Bacillus cereus* strain TC-1 on *Microcystis aeruginosa* and *Microcystis* sp. under different alkalinity
 $n=4$; $\bar{x}\pm SE$; %

时间/d time	溶藻率 _{铜绿微囊藻} R_{TW}		溶藻率 _{微囊藻} R_{WN}	
	4.0 mmol/L	12.0 mmol/L	4.0 mmol/L	12.0 mmol/L
1	26.11±0.13 ^a	25.17±0.14 ^a	46.41±0.03 ^A	30.21±0.21 ^B
2	32.51±0.08 ^a	54.78±0.07 ^b	51.84±0.04 ^A	43.33±0.08 ^B
3	51.62±0.10 ^a	64.88±0.06 ^b	59.79±0.02 ^A	49.38±0.09 ^B
4	54.42±0.07 ^a	70.64±0.06 ^b	68.33±0.04 ^A	70.21±0.12 ^A
5	66.30±0.03 ^a	75.16±0.04 ^b	83.53±0.02 ^A	80.42±0.04 ^A
6	88.42±0.04 ^a	82.83±0.03 ^a	88.79±0.05 ^A	91.67±0.10 ^A
7	88.29±0.03 ^a	84.30±0.04 ^a	91.94±0.04 ^A	100.00±0.00 ^A
8	94.16±0.02 ^a	90.14±0.05 ^a	92.84±0.02 ^A	100.00±0.00 ^A

注:不同小写字母表示不同碱度条件下菌株 TC-1 对铜绿微囊藻的溶藻率差异显著($P<0.05$);不同大写字母表示不同碱度条件下菌株 TC-1 对微囊藻的溶藻率差异显著($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters indicate that there is a significant difference in the algae-lysing rate of strain TC-1 on *Microcystis aeruginosa* under different alkalinity conditions ($P<0.05$); Different capital letters indicate that there is a significant difference in the algae-lysing rate of strain TC-1 on *Microcystis* sp. under different alkalinity conditions ($P<0.05$).

结果表明,蜡样芽胞杆菌 TC-1 的溶藻作用见效快,2~3 d 即可发挥显著的溶藻效果,且最终能溶解绝大部分铜绿微囊藻和微囊藻细胞。

2.4 蜡样芽胞杆菌细菌密度变化

铜绿微囊藻(TW)及微囊藻(WN)加菌组在溶藻过程中的蜡样芽胞杆菌细菌密度变化如图 6 所示。蜡样芽胞杆菌菌株 TC-1 在不同藻菌共培养体系加菌组中的藻密度变化趋势一致。

菌株 TC-1 在 4 mmol/L 碱度的铜绿微囊藻共培养体系中及微囊藻共培养体系中的初始细菌密度为 $(1.33\pm 0.00)\times 10^6$ CFU/mL,整体呈现下降趋势。在铜绿微囊藻的溶藻加菌组中,第 2 天时蜡

样芽胞杆菌细菌密度大幅度下降至 $(2.38\pm 0.38)\times 10^5$ CFU/mL,第 8 天下降至 $(5.75\pm 0.22)\times 10^4$ CFU/mL,各阶段细菌密度差异显著($P<0.05$)。在微囊藻的溶藻加菌组中,第 2 天时蜡样芽胞杆菌细菌密度大幅度下降至 $(2.60\pm 0.36)\times 10^5$ CFU/mL,第 8 天下降至 $(4.75\pm 0.22)\times 10^4$ CFU/mL,各阶段细菌密度差异显著($P<0.05$)。

菌株 TC-1 在 12.0 mmol/L 碱度的铜绿微囊藻共培养体系中及微囊藻共培养体系中的初始细菌密度为 $(3.62\pm 0.00)\times 10^6$ CFU/mL,虽在第 2 天细菌密度有所下降,但从整体上看,仍然呈现上升趋势。在铜绿微囊藻的溶藻加菌组中,第 2 天时蜡

样芽孢杆菌细菌密度大幅度下降至 $(7.82 \pm 0.26) \times 10^5$ CFU/mL, 随后细菌密度上升, 在第 8 天升至 $(5.13 \pm 0.79) \times 10^6$ CFU/mL。在微囊藻的溶藻加菌组

中, 第 2 天时蜡样芽孢杆菌细菌密度大幅度下降至 $(6.25 \pm 0.12) \times 10^5$ CFU/mL, 随后细菌密度上升, 在第 8 天升至 $(7.35 \pm 0.56) \times 10^6$ CFU/mL。

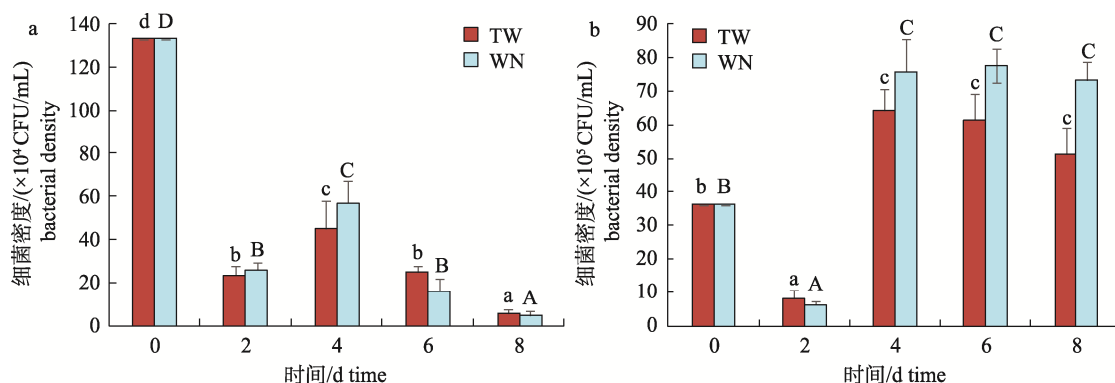


图 6 在碱度 4.0 mmol/L (a)、12.0 mmol/L (b)条件下藻菌共培养体系中蜡样芽孢杆菌 TC-1 的细菌密度变化
柱形图上方不同小写字母等表示 TW 实验组在不同时间点有显著性差异($P < 0.05$); 不同大写字母代表 WN

实验组在不同时间点有显著性差异($P < 0.05$)。

Fig. 6 Changes in the bacterial density of *Bacillus cereus* TC-1 strain at 4.0 mmol/L (a) and 12.0 mmol/L (b) in co-culture system with *Microcystis aeruginosa* (TW) and *M.sp* (WN). Different lowercase letters represent significant differences at the different time points of TW group ($P < 0.05$); Different capital letters represent significant differences at different time points of WN group ($P < 0.05$).

3 讨论

溶藻菌具有抑制藻类生长, 或杀死藻类、溶解藻细胞的功能^[29], 构建以溶藻菌为核心的养殖池塘菌藻控制技术具有良好的应用前景^[30]。本团队前期从海水养殖池塘中分离筛选到针对海水池塘优势蓝藻——绿色颤藻(*Oscillatoria chlorina*)、小颤藻(*Oscillatoria tenuis*)、浮游颤藻(*Oscillatoria planctonica*)的溶藻菌 CZBC1 和针对优势甲藻——锥状斯氏藻(*Scrippsiella trochoidea*)、海洋原甲藻(*Prorocentrum micans*)、椭圆形多甲藻(*Peridinium umbonatum*)的溶藻菌 JZBC1, 应用于海水对虾养殖池塘的有害蓝藻和甲藻防控, 获得了良好的应用效果, 对虾养殖池塘有害藻比例稳定控制在 5% 以下^[31-32]。然而, 盐碱池塘具有不同于淡水和海水池塘的环境特异性, 其水体具有高 pH、高碳酸盐碱度、高离子系数、水质类型多等特点^[1]。从盐碱池塘筛选土著菌株, 开展微囊藻溶藻菌的生态适应性及其溶藻特性评价, 可为盐碱池塘水体微囊藻防控的实际应用提供菌种资源。

盐度、温度、pH 和碱度是盐碱池塘水产养殖中的重要理化指标^[2,33]。其中, 根据《盐碱地水产养殖用水水质》(SC/T 9406—2012)标准, 适宜养

殖的盐碱池塘的水体 pH 应稳定在 9.0 以下, 碱度应控制在 15.0 mmol/L 以下^[34]。碱度是盐碱水体的重要理化指标之一。孙博等^[35]研究了盐碱水质中碳酸盐碱度对“黄育 1 号”脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)的影响, 发现碱度超过 5 mmol/L 时, 脊尾白虾幼虾成活率开始明显下降, 在碱度 11 mmol/L 以上无法生存。任帅帅等^[36]研究发现当碱度大于 10 mmol/L 时, 青虾(*Macrobrachium nipponense*)开始死亡。碱度 14.42 mmol/L 为青虾的半致死浓度, 而安全浓度为 4.71 mmol/L。当前, 关于溶藻菌株的生态适应性研究主要聚焦于拟应用于淡水水华、海洋赤潮以及海水池塘等环境的菌株在不同盐度、温度和 pH 条件下的生长性能。刘萍等^[37]研究发现, 铜绿微囊藻溶藻菌 RZ14 在 20~42 °C 皆能生长, 但低温会明显抑制其生长, 高温则促进其生长。该菌在中性及偏碱性条件下的生长状况优于酸性条件, 在 0.5%~2% 盐度范围内良好, 其中在 0.5% NaCl 盐度下生长最佳。但现有的研究中尚未针对菌株在不同碱度条件下的生长适应性展开深入研究。本研究表明, 菌株 TC1 在盐度 5~35、pH 6.0~10.0、温度 20~40 °C 和碱度 4.0~16.0 mmol/L 的环境条件下具有良好的环

境适应性,其适应范围与大部分盐碱池塘水体的盐度、温度、pH 和碱度的变动范围一致,可为其在盐碱池塘水体微囊藻防控的实际应用奠定基础。

微囊藻是盐碱池塘养殖生物面临的主要藻类威胁之一。有害蓝藻的过度繁殖不仅影响水质,还可能对养殖生物造成直接危害。运用土著微生物防控养殖池塘有害藻华具有易于培养、繁殖快、成本低、操作简单、应用便捷、物种特异性强和环境友好等特点。洪桂云等^[38]的研究表明,从富营养化水体和土壤中分离筛选出一株溶藻菌 JHQ3 对铜绿微囊藻具有显著的溶藻效果,JHQ3 原菌液的溶藻率最高可达 97.56%。此外,温度是影响 JHQ3 溶藻效果的重要因素之一。在 30 ℃ 的条件下,该菌株的溶藻效果最佳,溶藻率达到 94.06%。当 pH 为 7.0 时,JHQ3 对铜绿微囊藻的溶藻率达 83.39%。Lee 等^[39]研究了蜡样芽孢杆菌菌株 T4 对铜绿微囊藻的溶藻效果,将其与其他细菌结合使用,不仅可有效溶解铜绿微囊藻细胞,还能降解其产生的毒素。

本研究中,菌株 TC-1 在碱度 4.0 mmol/L 和 12.0 mmol/L 的条件下对铜绿微囊藻及微囊藻均具有显著的溶藻效果,第 8 天的溶藻率可达 90%~100%。这表明菌株 TC-1 在不同碱度条件下对两种微囊藻均有良好的溶藻效果。在室内培养时,铜绿微囊藻呈单细胞分散形态^[23],而微囊藻在野外多为多细胞成团形态,因此,选用铜绿微囊藻及微囊藻两种藻类进行实验,以更真实地评价蜡样芽孢杆菌菌株 TC-1 对微囊藻的作用效果。结果表明,菌株 TC-1 对微囊藻的溶藻效率高于铜绿微囊藻,针对多细胞成团形态的藻细胞具有更好的溶藻效果。值得注意的是,在碱度 12.0 mmol/L 条件下第 8 天蜡样芽孢杆菌的细菌密度仍能维持在初始的 10^6 CFU/mL 水平。这表明菌株 TC-1 在溶藻过程中具有良好的生长适应性,能够在盐碱池塘的环境中稳定存活并发挥溶藻作用,这对于溶藻菌剂在盐碱池塘的应用具有重要意义。与前人的研究相比,菌株 TC-1 因其良好的生长适应性和独特的溶藻特性,在盐碱池塘水体生态修复中具有广阔的应用前景。考虑溶藻菌对微囊藻的溶藻机制、溶藻菌发酵产品对微囊藻的作用效

果等均关系到溶藻菌实际应用效果,后续将进一步深入研究菌株 TC-1 的溶藻机制、优化培养条件及其在盐碱池塘环境中的应用效果。

4 结论

蜡样芽孢杆菌菌株 TC-1 在盐度 5~35、pH 6.0~10.0、温度 20~40 ℃、碱度 4.0~16.0 mmol/L 的条件下生长良好,其中,在盐度 15、pH 8.0、温度 30 ℃、碱度 12.0 mmol/L 的条件下生长最好,细菌密度可达 $(1.14 \pm 0.16) \times 10^8$ CFU/mL。菌株 TC-1 在碱度 4.0 mmol/L 和 12.0 mmol/L 的盐碱水与微囊藻和铜绿微囊藻 BG11 培养液共培养过程中溶藻效果显著,第 6 天时菌株 TC-1 的溶藻率可达 $(82.83 \pm 0.03)\% \sim (91.67 \pm 0.10)\%$ 。结果表明菌株 TC-1 对盐度、pH、温度、碱度等环境因子具有良好的适应性,与大部分盐碱池塘水体的盐度、温度、pH 和碱度的变动范围一致;其对微囊藻的溶藻效果良好,可作为盐碱池塘防控微囊藻藻华菌剂产品的备选菌株。

参考文献:

- [1] Lu G Z, Yao Z L, Lai Q F, et al. Growth performance, blood parameters and texture characteristics of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) exposed to highly saline-alkaline water[J]. Progress in Fishery Sciences, 2022, 43(4): 1-11. [逯冠政, 么宗利, 来琦芳, 等. 高盐碱环境下大口黑鲈幼鱼生长性能、血液生理指标与质构特征研究[J]. 渔业科学进展, 2022, 43(4): 1-11.]
- [2] Liu Y X, Fang H, Lai Q F, et al. The current state and development strategy for China's saline-alkaline fisheries[J]. Strategic Study of CAE, 2016, 18(3): 74-78. [刘永新, 方辉, 来琦芳, 等. 我国盐碱水渔业现状与发展对策[J]. 中国工程科学, 2016, 18(3): 74-78.]
- [3] Zhou C Y, Yao Z L, Lai Q F, et al. Growth inhibition of *Microcystis aeruginosa* by *Bacillus licheniformis* in saline-alkaline water[J]. Journal of Hydroecology, 2023, 44(6): 136-141. [周成夷, 么宗利, 来琦芳, 等. 盐碱水中地衣芽孢杆菌抑制铜绿微囊藻生长研究[J]. 水生态学杂志, 2023, 44(6): 136-141.]
- [4] Li Y, Zhang J W, Wei J, et al. Advances in mechanism of the occurrence, hazard, and prevention/control utilization of cyanophytic blooms in China[J]. Journal of Microbiology, 2015, 35(4): 93-97. [李媛, 张家卫, 魏杰, 等. 我国蓝藻水华的发生机理、危害及防控利用研究进展[J]. 微生物学杂

- 志, 2015, 35(4): 93-97.]
- [5] Qiu X C, Zhao H X. Community structure and biodiversity of phytoplankton in Shahu Lake, Ningxia[J]. Journal of Hydroecology, 2011, 32(1): 20-26. [邱小琮, 赵红雪. 宁夏沙湖浮游植物群落结构及多样性研究[J]. 水生态学杂志, 2011, 32(1): 20-26.]
- [6] Liu J F, Hu X J, Cao Y C, et al. Community characteristics of planktonic microalgae in aquaculture ponds of different modes in Ningxia in summer[J]. Progress in Fishery Sciences, 2023, 44(2): 161-173. [刘锦帆, 胡晓娟, 曹煜成, 等. 宁夏地区不同模式养殖池塘夏季浮游微藻群落特征[J]. 渔业科学进展, 2023, 44(2): 161-173.]
- [7] Shao Z P, Lai J L, Yuan H Y, et al. Analysis on the microbial community structure during the outbreak of algal bloom in different kinds of eutrophic micro water bodies[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2023, 43(3): 490-502. [邵志平, 赖姜伶, 苑宏英, 等. 不同类型富营养化微型水体藻华暴发期微生物群落结构变化分析[J]. 环境科学学报, 2023, 43(3): 490-502.]
- [8] Zhang W Z, Wang L, Chen L, et al. Proliferation of filamentous green algae along with submerged macrophytes planting, and the role of microbe[J]. Ecological Engineering, 2019, 139: 105570.
- [9] Cao Y C, Li Z J, Yang Y Y, et al. Research progress on technology of microalgae ecological management in shrimp culture[J]. South China Fisheries Science, 2007, 3(4): 70-73. [曹煜成, 李卓佳, 杨莺莺, 等. 浮游微藻生态调控技术在对虾养殖应用中的研究进展[J]. 南方水产, 2007, 3(4): 70-73.]
- [10] Duan Y F, Xiong D L, Wang Y, et al. Effects of *Microcystis aeruginosa* and microcystin-LR on intestinal histology, immune response, and microbial community in *Litopenaeus vannamei*[J]. Environmental Pollution, 2020, 265: 114774.
- [11] Gao J F, Zuo H L, Yang L W, et al. Long-term influence of cyanobacterial bloom on the immune system of *Litopenaeus vannamei*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 61: 79-85.
- [12] Xu Y, Xu W J, Wen G L, et al. Effect of cell concentration and water temperature on toxicity of *Litopenaeus vannamei* caused by *Oscillatoria chlorina*[J]. South China Fisheries Science, 2017, 13(1): 26-32. [徐煜, 徐武杰, 文国樑, 等. 颤藻浓度和水温对凡纳滨对虾响应颤藻粗提液毒性的影响[J]. 南方水产科学, 2017, 13(1): 26-32.]
- [13] Ho L, Tang T, Monis P T, et al. Biodegradation of multiple cyanobacterial metabolites in drinking water supplies[J]. Chemosphere, 2012, 87(10): 1149-1154.
- [14] Lüring M, Faassen E J. Controlling toxic cyanobacteria: Effects of dredging and phosphorus-binding clay on cyanobacteria and microcystins[J]. Water Research, 2012, 46(5): 1447-1459.
- [15] Cao Y C, Wen G L, Li Z J, et al. Effects of dominant microalgae species and bacterial quantity on shrimp production in the final culture season[J]. Journal of Applied Phycology, 2014, 26(4): 1749-1757.
- [16] Wang S B, Xu Z R, Zhang J. A review of technologies for prevention and control of cyanobacteria blooms in large-scale eutrophicated lakes and reservoirs[J]. Water Resources Protection, 2016, 32(4): 88-99. [王寿兵, 徐紫然, 张洁. 大型湖库富营养化蓝藻水华防控技术发展述评[J]. 水资源保护, 2016, 32(4): 88-99.]
- [17] Li S S. The optimization of fermentative parameters of bacteria A4 and its algicidal effects on dinoflagellate[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017. [李莎莎. 甲藻溶藻菌 A4 发酵培养参数优化及其溶藻效果的探究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017.]
- [18] Hong G Y, Huang J F, Zhu Y N, et al. Isolation and characterization of algae-solubilizing bacteria from a waterwash strain of *Cichlidium ichneumonae*[J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2023, 50(5): 881-888. [洪桂云, 黄浚峰, 朱钰妮, 等. 一株水华鱼腥藻溶藻细菌的分离鉴定和溶藻特性[J]. 安徽农业大学学报, 2023, 50(5): 881-888.]
- [19] Liu F, Zhu S N, Qin L, et al. Isolation, identification of algicidal bacteria and contrastive study on algicidal properties against *Microcystis aeruginosa*[J]. Biochemical Engineering Journal, 2022, 185: 108525.
- [20] Shi X L, Yang J S, Chen K N, et al. Review on the control and mitigation strategies of lake cyanobacterial blooms[J]. Journal of Lake Sciences, 2022, 34(2): 349-375. [史小丽, 杨瑾晟, 陈开宁, 等. 湖泊蓝藻水华防控方法[J]. 湖泊科学, 2022, 34(2): 349-375.]
- [21] Xie J, Pan W B, Zeng J Y. Algicidal effect of metabolites of algicidal bacteria strain L7 on *Anabaena flosaquae*[J]. Environmental Protection Science, 2014, 40(1): 36-40. [谢静, 潘伟斌, 曾嘉韞. 溶藻细菌 L7 代谢物对水华鱼腥藻的溶藻效应[J]. 环境保护科学, 2014, 40(1): 36-40.]
- [22] Hu X J, Xu Y, Su H C, et al. Algicidal bacterium CZBC1 inhibits the growth of *Oscillatoria chlorina*, *Oscillatoria tenuis*, and *Oscillatoria planctonica*[J]. AMB Express, 2019, 9(1): 144.
- [23] Liu J Y, Yang C Y, Chi Y X, et al. Algicidal characterization and mechanism of *Bacillus licheniformis* Sp34 against *Microcystis aeruginosa* in Dianchi Lake[J]. Journal of Basic Microbiology, 2019, 59(11): 1112-1124.
- [24] Zhuo T Y, Wan Q, Chai B B, et al. Eutrophic water

- remediation efficiency of algicidal bacteria, *Cellvibrio* sp. G1 and *Chitinimonas* sp. G2, and their influence on microbial community structure[J]. *Algal Research*, 2023, 71: 103034.
- [25] Li J J, Chen L, Wang J Y, et al. Isolation and characterization of an algicidal bacterium LD-B3 against the bloom-forming algae *Gymnodinium impudicum*[J]. *Journal of Applied Oceanography*, 2024, 43(1): 192-200. [李俊佳, 陈磊, 王君玥, 等. 伊姆裸甲藻溶藻菌 LD-B3 的分离鉴定及溶藻作用[J]. *应用海洋学学报*, 2024, 43(1): 192-200.]
- [26] Yang Y F, Hu X J, Zhang J, et al. Community level physiological study of algicidal bacteria in the phycosphere of *Skeletonema costatum* and *Scrippsiella trochoidea*[J]. *Harmful Algae*, 2013, 28: 88-96.
- [27] Liu J F. Analysis of community characteristics of planktonic microalgae in three aquaculture models of ponds in Ningxia and screening of algicidal bacteria of cyanophyta[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2023. [刘锦帆. 宁夏三种养殖模式池塘浮游微藻群落特征分析及蓝藻溶藻菌的筛选[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2023.]
- [28] National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National food safety standard-food microbiological examination-examination of bacillus cereus: GB4789.14—2014[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014. [中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 蜡样芽孢杆菌检验: GB4789.14—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.]
- [29] Jiang X L, Qiao B Q, Pan Z S, et al. Screening and identification of a highly efficient algicidal bacterium and analysis of biological characteristics[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2023, 47(7): 1129-1138. [蒋贤龙, 乔冰清, 潘知顺, 等. 一株赤潮藻溶藻菌的筛选鉴定及溶藻特性分析[J]. *水生生物学报*, 2023, 47(7): 1129-1138.]
- [30] Chen Y Z. Isolation and identification of interalgal bacteria and nitrogen uptake characteristics and omics analysis of algal-bacterial systems[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2022. [陈永志. 藻际细菌的分离鉴定及藻菌体系对氮的吸收特性与组学分析[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2022.]
- [31] Hu X J, Su H C, Xu Y, et al. Algicidal properties of fermentation products from *Bacillus cereus* strain JZBC1 dissolving dominant dinoflagellate species *Scrippsiella trochoidea*, *Prorocentrum micans*, and *Peridinium umbonatum*[J]. *Biologia*, 2020, 75(11): 2015-2024.
- [32] Hu X J, Wen G L, Xu W J, et al. Effects of the algicidal bacterium CZBC1 on microalgal and bacterial communities in shrimp culture[J]. *Aquaculture Environment Interactions*, 2019, 11: 279-290.
- [33] Sun W M, Dong S L, Jie Z L, et al. The impact of net-isolated polyculture of tilapia (*Oreochromis niloticus*) on plankton community in saline-alkaline pond of shrimp (*Penaeus vannamei*)[J]. *Aquaculture International*, 2011, 19(4): 779-788.]
- [34] Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Water quality for aquaculture in saline-alkaline land: SC/T9406—2012[S]. Beijing: China Agriculture Press, 2012. [中华人民共和国农业部. 盐碱地水产 养殖用水水质: SC/T9406—2012[S]. 北京: 中国农业出版社, 2012.]
- [35] Sun B, Ren S S, Chang Y M, et al. Effects of low salinity and alkalinity on survival of ridgetail white prawn *Exopalaemon carinicauda*[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2022, 35(5): 71-75. [孙博, 任帅帅, 常玉梅, 等. 低盐度及碱度对脊尾白虾生存的影响[J]. *水产学杂志*, 2022, 35(5): 71-75.]
- [36] Ren S S, Sun B, Luo L, et al. Tolerance of freshwater shrimp (*Macrobrachium nipponense*) to alkalinity and low temperature in Northeast China[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2020, 33(2): 24-28. [任帅帅, 孙博, 罗亮, 等. 青虾 *Macrobrachium nipponense* 对碱度及低温的耐受性[J]. *水产学杂志*, 2020, 33(2): 24-28.]
- [37] Liu P, Li J L. Study on an alkaline resistant algae-bacteria: Its environmental tolerance and lytic characteristics[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 38(12): 11-15, 40. [刘萍, 李甲亮. 一株耐碱溶藻菌耐受性及其溶藻特性研究[J]. *环境科学与技术*, 2015, 38(12): 11-15, 40.]
- [38] Hong G Y, Wang T, Zhu H, et al. Algae-lysing effect of algicidal bacterium *Serratia* sp. on *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus obliquus*[J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2024, 44(1): 76-83. [洪桂云, 汪涛, 朱慧, 等. *Serratia* sp. 对铜绿微囊藻、斜生栅藻的溶藻效果[J]. *广东海洋大学学报*, 2024, 44(1): 76-83.]
- [39] Lee C, Jeon M S, Vo T T, et al. Establishment of a new strategy against *Microcystis* bloom using newly isolated lytic and toxin-degrading bacteria[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2018, 30(3): 1795-1806.

Growth adaptability of *Bacillus cereus* TC-1 to sulfate-type saline-alkaline water and its algicidal effect on *Microcystis* sp.

JIANG Yunjia^{1,2}, HU Xiaojuan^{2,3}, YANG Keng^{2,4,5}, CAO Yucheng^{2,3}, XU Yunna², XU Chuangwen^{2,4}, ZHANG Jianshe¹, WEN Guoliang²

1. National Engineering Research Center for Marine Aquaculture, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;
2. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; Key Laboratory of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Guangdong Provincial Key Laboratory of Fishery Ecology and Environment, Guangzhou 510300, China;
3. Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory (Zhuhai), Zhuhai 519000, China;
4. Guangzhou Xinhailisheng Biotechnology Co., Ltd. Guangzhou 510300, China;
5. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China

Abstract: Saline-alkaline water resources in China are widely distributed. Saline-alkaline water is characterized by a high pH value, carbonate alkalinity, and ion coefficient. Therefore, regulating water quality has become a key challenge and focus of saline-alkaline aquaculture. Frequent outbreaks of harmful Cyanobacteria in saline-alkaline ponds severely affect the healthy growth of aquaculture organisms. *Microcystis* spp. is one among the major harmful Cyanobacteria. Currently, the primary methods for controlling harmful Cyanobacteria include physical, chemical, and biological methods. However, physical or chemical methods for preventing and controlling algal blooms have certain limitations, such as being time-consuming, labor-intensive, heavy pollutants, and prone to recurrence. Biological methods, such as the use of algicidal bacteria, are highly efficient and safe, making them a hot research topic. In the aquaculture industry, *Bacillus* species with algicidal properties, such as *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Lysinibacillus fusiformis*, and *Brevibacillus laterosporus* are receiving increasing attention from researchers. However, a few reports are available on algicidal bacteria against harmful Cyanobacteria in saline-alkaline ponds. The Ningxia Hui Autonomous Region, located in the northwest of China, has several northwest sulfate-type saline-alkaline ponds. In this study, we selected a strain of *B. cereus* TC-1, which was isolated and screened from the microalgae environment in saline-alkaline ponds of Ningxia Hui Autonomous Region. The growth adaptability of this strain was studied under different conditions of salinity (5, 15, 25, and 35), pH (4.0, 6.0, 8.0, and 10.0), temperature (10 °C, 20 °C, 30 °C, and 40 °C), and alkalinity (4.0 mmol/L, 8.0 mmol/L, 12.0 mmol/L, and 16.0 mmol/L). Additionally, its algal solubilization effects on two kinds of *Microcystis* were explored. Using nutrient agar culture medium, the bacterial density of each experimental group was determined on days 0, 2, 4, 6, and 8. The results showed that strain TC-1 grew well under conditions of salinity of 5–35, pH 6.0–10.0, temperature of 20 °C–40 °C, and alkalinity of 4.0–16.0 mmol/L. The best growth was observed under conditions of salinity of 15, pH 8.0, temperature of 30 °C, and alkalinity of 12.0 mmol/L, with a bacterial density of $(1.14 \pm 0.16) \times 10^8$ CFU/mL. In the co-cultivation system of saline-alkaline water with alkalinity of 4.0 mmol/L and 12.0 mmol/L, the algicidal effects of strain TC-1 on *Microcystis aeruginosa* and *Microcystis* sp. were significant. After the action of *B. cereus* strain TC-1, phenomena, such as fading, cell wall rupture, blurred and deformed edges, and protoplast efflux were observed, resulting in a significant decrease in the algal density. On the 6th day, the algicidal rate of strain TC-1 reached $(82.83 \pm 0.03)\%$ to $(91.67 \pm 0.10)\%$. The results indicate that strain TC-1 has good adaptability to environmental factors, such as salinity, pH, temperature, and alkalinity which is generally consistent with the variation range of salinity, temperature, and pH in most saline-alkaline pond water. It has a good algicidal effect on *Microcystis* spp. and can be used as a candidate strain for the prevention and control of *Microcystis* blooms in saline-alkaline ponds.

Key words: saline-alkaline systems; algicidal bacteria; *Microcystis*; *Bacillus cereus*; saline-alkali water

Corresponding authors: WEN Guoliang, E-mail: guowen66@163.com; ZHANG Jianshe, E-mail: zhangjianshe@zjou.edu.cn