

Chryseobacterium sp. S7 溶藻过程光谱学特性及机理研究

王金霞¹, 罗乐¹, 陈玉成², 何清明³, 詹玲玲¹, 赵雪¹

1. 重庆工程职业技术学院, 重庆 402260

2. 西南大学资源环境学院, 重庆 400715

3. 泰州学院, 江苏 泰州 225300

摘要 藻类的大量繁殖对饮用水源、养殖业、旅游业以及人类健康造成了极大的影响。溶藻细菌作为一种生物控制手段,在控制藻类爆发方面显示出了极大的潜力。课题组前期分离获得一株金黄杆菌属溶藻菌 *Chryseobacterium* sp. S7, 研究发现该菌株具有明显的溶藻作用,作用方式为通过分泌溶藻物质进行间接溶藻,为进一步揭示该菌的溶藻特征及机理,以铜绿微囊藻为目标藻种,运用 UV-Vis, EEMs, FTIR 和 FCM 技术,分析 *Chryseobacterium* sp. S7 溶藻过程的光谱特性。实验结论如下:将菌株发酵液与藻液共培养 7 d,利用 UV-Vis 和 EEMs 技术对藻细胞 Chla 含量与 PC 荧光值变化趋势进行分析,结果显示:藻细胞 Chla 含量在第 1 d 便开始下降,表明在短时间内,细菌胞外溶藻物质便可快速作用于藻细胞,第 7 d 时 Chla 去除率为 59.37%。藻细胞 PC 荧光值也呈现下降趋势,与 Chla 变化趋势表现为一致性,表明在溶藻过程中伴有 Chla 和 PC 的减少。FTIR 分析结果显示:藻细胞结构中的 C=O, C-H, O-H 键分别在 1 647, 2 927 和 3 475~3 437 cm^{-1} 处的吸收峰强度明显减弱,表明藻细胞内的多糖物质和蛋白质结构可能被破坏,处于 2 500~1 700 cm^{-1} 范围的若干小吸收峰则进一步表明藻细胞解体的现象。分别在共培养第 3 d 和第 7 d 时对藻液进行 PI 特异染色,应用 FCM 对藻细胞 PI 特异性荧光和 Chla, PC 自发荧光特性进行分析,结果显示,在细菌 S7 的溶藻过程中,藻细胞 PI 特异性荧光逐渐增强,Chla、PC 自发荧光呈下降趋势、表明藻细胞膜、Chla、PC 三者破坏程度在溶藻过程中具有紧密的内在联系和较高的一致性。溶藻过程中藻细胞表现为多种形式的损伤,且损伤处于动态变化过程中,由 Q1(Q5)区细胞按顺序逐步向 Q4(Q8)区细胞移动。推测 *Chryseobacterium* sp. S7 可能的溶藻过程为:细菌将溶藻活性物质释放到细胞外,溶藻活性物质通过破坏铜绿微囊藻细胞膜中的多糖和蛋白质的结构,增加膜的通透性,进一步破坏胞体内的 Chla, PC 和 DNA/RNA 等物质,使藻体裂解死亡,最终形成细胞碎片。通过对 *Chryseobacterium* sp. S7 溶藻过程藻细胞的光谱学特性的分析,初步揭示了 *Chryseobacterium* sp. S7 的溶藻机理,为微生物控藻及修复技术提供了理论依据。

关键词 *Chryseobacterium* sp. S7; 铜绿微囊藻; PI; Chla; PC; 光谱特性; 溶藻机理

中图分类号: X524 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)06-1817-06

引言

近年来,有害藻类水华的爆发在我国部分湖(库)十分严重,不仅影响水体水质、危害水生生态系统,其中蓝藻代谢产生的藻毒素还直接影响饮水安全和人类健康^[1-2]。因此,蓝藻水华近年来受到了越来越广泛的重视^[3]。溶藻细菌不仅可以在一定程度上控制(降低)藻类泛滥繁殖^[4-5]。更因其环境友好性和可持续性,成为目前蓝藻生物防治法研究的热点

之一。但藻-菌共培养体系成分十分复杂,既含有正常藻细胞和死亡藻细胞、又有不同生理状态下的损伤藻细胞、以及它们各自复杂的代谢产物,而且所有的这些成分都处于不断变动中。由于藻-菌共同培养体系的复杂性使溶藻机理的研究变得十分困难。近年来,有研究者应用光谱技术对溶藻过程中的产物及机理进行了研究。紫外-可见吸收光谱(UV-Vis absorption spectra, UV-Vis)技术被广泛应用于检测有害藻类的叶绿素 a(Chlorophyll a, Chla)含量^[6]。藻蓝蛋白(Phycocyanin, PC)是蓝藻特有的蛋白质,且具有荧光属性,因此

收稿日期: 2018-07-20, 修订日期: 2018-11-09

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2015BAL04B01), 江苏省高校自然科学研究面上项目(15KJD610005), 重庆市教委科学技术研究计划青年资助项目(KJQN201803406)资助

作者简介: 王金霞,女,1980年生,重庆工程职业技术学院副教授 e-mail: 42219423@qq.com

可以检测藻细胞的荧光值来间接表示藻细胞 PC 的含量^[7]。孔赞等运用傅里叶红外光谱(infrared spectroscopy, FTIR), 荧光光谱(fluorescence spectroscopy, EEMs)等技术初步揭示了 *Streptomyces* sp. HJC-D1 的溶藻机理。

流式细胞术(flow cyto metry, FCM)技术可对整个复杂体系里单个细胞水平的荧光强度进行测量, 应用 FCM 技术能从微粒物质、死细胞和混合藻类中区分出活的藻细胞, 还可进行多参数设定, 测定其细胞形态、Chla、PC 含量、外加特异荧光等, 反映细胞膜完整性、含量等生理生化特征。

课题组前期从三峡库区彭溪河中分离获得一株金黄杆菌属溶藻菌 *Chryseobacterium* sp. S7, 发现该菌株通过分泌溶藻物质对铜绿微囊藻具有明显的抑制作用^[7], 为进一步揭示溶藻特征及机理, 运用 UV-Vis, EEMs, FTIR 和 FCM 技术, 以 PI 染色外源特异性荧光、PC、Chla 自发荧光分析 *Chryseobacterium* sp. S7 溶藻过程的光谱特性, 检测 *Chryseobacterium* sp. S7 溶藻过程中藻细胞生理特性周期性变化, 种群数量上的变动, 初步揭示溶藻菌的溶藻机理, 以期为微生物控藻及水源的生物修复技术提供理论依据。

1 实验部分

1.1 材料

1.1.1 藻种

以铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa* 905)为研究对象, 将实验藻种置于恒温光照培养箱中培养, 选择 BG11 培养基, 培养温度设置为 25 °C, 光照强度设置为 2 200 lux, 每天进行 14 h: 10 h 的光暗交替培养。

1.1.2 菌种

溶藻菌 *Chryseobacterium* sp. S7, 采用牛肉膏蛋白胨斜面培养基对菌株 S7 进行保种, 保存温度为 4 °C, 采用牛肉膏蛋白胨液体培养基对菌株 S7 进行扩大培养, 培养温度设置为 30 °C, 摇床转速设置为 1 500 r · min⁻¹, 培养时间为 24 h。10 000 r · min⁻¹离心 15 min, 保留上清液, 备用。

1.2 方法

1.2.1 菌株 S7 对藻细胞 Chla 的影响

将 40 mL 上清液添加至 100 mL 藻液中, 对照组加入 40 mL 灭菌细菌培养基进行共培养。每个样品均设置 3 个平行样, 每日定时用 721 型可见分光光度计(上海)检测铜绿微囊藻 Chla 含量($\lambda=680$ nm)。

1.2.2 菌株 S7 对藻细胞 PC 的影响

将 40 mL 上清液添加至 100 mL 藻液中, 对照组加入 40 mL 灭菌细菌培养基进行共培养。每个样品均设置 3 个平行样, 每日用 F-7000 荧光分光光度计(日本)检测铜绿微囊藻 PC 特征荧光强度($\lambda_{\text{激发波长}}=620$ nm, $\lambda_{\text{发射波长}}=650\sim 660$ nm)^[8-9]。

1.2.3 藻细胞 FTIR 特性分析

将 20 mL 上清液添加至 50 mL 藻液中, 对照组中加入 20 mL 灭菌细菌培养基进行共同培养, 在 7 d 后分别取适量对照组、实验组藻液进行离心并取其沉淀, 用双蒸水洗涤后再离心, 制成藻干粉, 再采用 KBr 压片的方法应用 EQUI-

NOX55 型傅里叶变换红外光谱仪(德国)测定藻干粉的红外吸收光谱。

1.2.4 藻细胞荧光特性分析

取 10 mL 上清液添加到 100 mL 藻液中进行共培养, 对照组藻液加入 10 mL 灭菌细菌培养基。于共培养的第 3 d 和第 7 d, 吸取 2 mL 培养液至试管中, 加入 200 μ L 浓度为 100 mmol · L⁻¹ 的 PI 溶液, 在 25 °C 暗室中温育 15 min, 加入 1 mL PBS 缓冲液, 将流式细胞仪 Becton Dickinson FACS Calibur(美国)激发波长设为 488 nm, 荧光检测波长设置为 560~590 nm, 在 FL2-A 道收集 PI 荧光, 检测细胞膜完整性, 在 FL4-A 道收集 PC 荧光, 荧光检测波长大于 630 nm, 在 FL3-A 道收集 Chla 荧光。

2 结果与讨论

2.1 菌株 S7 对藻细胞 Chla 的影响

图 1 为实验组与对照组藻细胞 Chla 的含量随实验时间变化的柱状图, 由图 1 可知, 藻细胞 Chla 初始含量为 718 mg · m⁻³, 对照组第 7 d 藻细胞 Chla 含量为 812 mg · m⁻³, 对照组的藻细胞 Chla 含量呈增加的趋势, 而实验组藻细胞 Chla 含量在第 1 d 后便开始出现下降趋势, 表明在短时间内, 细菌胞外溶藻物质便可以快速作用于藻细胞, 2 d 后藻液出现黄化现象, 并且藻细胞 Chla 含量继续下降, 第 7 d 时 Chla 含量为 330 mg · m⁻³, 此时 Chla 去除率为 59.37%。有学者报道了不同菌株对藻细胞 Chla 的含量均具有一定的影响。Su^[10]分离的 *Acinetobacter* sp. J25 对藻细胞 Chla 的去除率高达 87.86%。另有研究表明: *Raoultella* sp. R11 在第 6 d 时对藻细胞 Chla 的去除效率高达 94.28%^[11]。从菌株对藻细胞 Chla 去除率结论可以看出, 菌株 S7 对藻细胞 Chla 含量的影响比其他菌株对藻细胞 Chla 影响低。

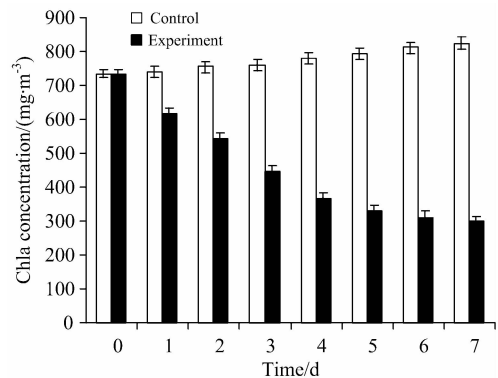


图 1 菌株 S7 对铜绿微囊藻 Chla 的影响

Fig. 1 Effects of strain S7 on the Chla of *Microcystis aeruginosa*

2.2 菌株 S7 对藻细胞 PC 荧光值的影响

图 2 为实验组与对照组藻细胞 PC 荧光值随实验时间变化的柱状图, 从图 2 可知, 藻细胞 PC 初始荧光值为 142.33, 对照组第 7 d 藻细胞 PC 荧光值为 206.83, 呈增加的趋势, 实验组第 7 d 藻细胞 PC 荧光值测定值为 76.40, 呈明显下降

趋势, PC 与 Chla 含量的变化趋势呈现正相关趋势。

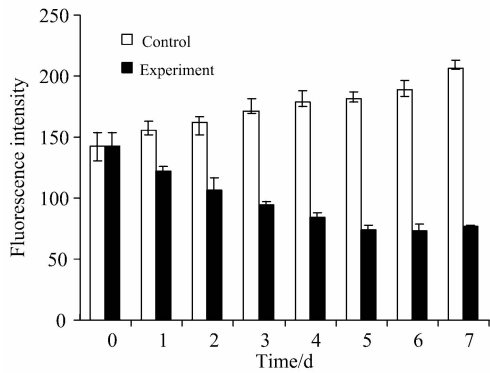


图 2 菌株 S7 对铜绿微囊藻 PC 的影响

Fig. 2 Effect of strain S7 on the PC of *Microcystis aeruginosa*

2.3 藻细胞红外吸收光谱特征

图 3 为藻细胞红外吸收光谱图,从图中可以看出,对照组与实验组藻细胞谱图主要吸收峰的位置变化不大,峰型相似,但主要吸收峰的相对强度均有所减弱,对主要吸收峰进行分析发现,实验组谱图在 $3\ 475\sim 3\ 437\ \text{cm}^{-1}$ 处吸收峰由原来的光滑峰变为尖锐峰,且吸收强度有所减弱,可能与藻细胞结构中 O—H 伸缩键被破坏有关;在 $2\ 927$ 和 $1\ 647\ \text{cm}^{-1}$ 处吸收峰位置未发生变化,但其吸收峰强度减弱,说明藻细胞结构中 C—H 键与 C=O 键可能遭到破坏;在 $2\ 500\sim 1\ 700\ \text{cm}^{-1}$ 范围内谱图出现了较多尖锐小峰,这可能是藻细胞的完整形态被破坏后胞质被吸收的原因。藻细胞红外谱图分析结果表明,在溶藻过程中,藻细胞内多糖物质和蛋白质类物质结构可能被破坏。孔赞也发现铜绿微囊藻溶藻前后 FTIR 光谱峰型非常相近,且在 $3\ 334\ \text{cm}^{-1}$ 处的 O—H 键、 $2\ 925\ \text{cm}^{-1}$ 处的 C—H、 $1\ 656\ \text{cm}^{-1}$ 处的 C=O 键均遭到破坏。

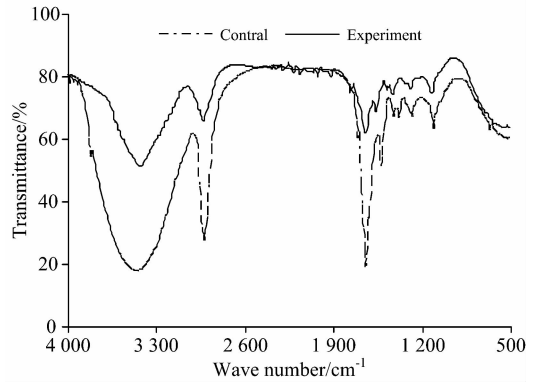


图 3 铜绿微囊藻红外光谱图

Fig. 3 Infrared spectrogram of *Microcystis aeruginosa*

2.4 藻细胞荧光特性分析

图 4 和图 5 分别为第 3 d 和第 7 d 对照组与实验组的 FCM 测试结果图,其中(a—c)图分别为 PI 荧光(FL2-H)、Chla 荧光(FL3-H)、PC 荧光(FL4-H)的直方图, M 值表示具有荧光强度的藻细胞所占百分比。(d)图为前向角与侧向角散射光(FSC-SSC-H)二维散点图。(e)图表示 PI/Chla (FL2/FL3) 荧光二维分布点图; Q1 区代表 PI—/Chla+ 细胞,表征为藻细胞膜完整无损,生理状态良好,因此无 PI 荧光, Chla 荧光强; Q2 区代表 PI+/Chla+ 细胞,表征为藻细胞外形可能与正常细胞无差别,但实质上细胞膜已被损伤,因此有 PI 荧光,有 Chla 荧光; Q3 区代表 PI+/Chla— 细胞,表征为死细胞,因此 PI 荧光强,无 Chla 荧光; Q4 区代表 PI—/Chla— 细胞,又称双阴细胞,表征为藻细胞几乎被分解,细胞内能与 PI 结合的 DNA/RNA 被破坏,死亡细胞对 PI 拒染,因此无 PI 荧光、无 Chla 荧光。(f)图为 PI/PC (FL2/FL4) 荧光二维分布点图。

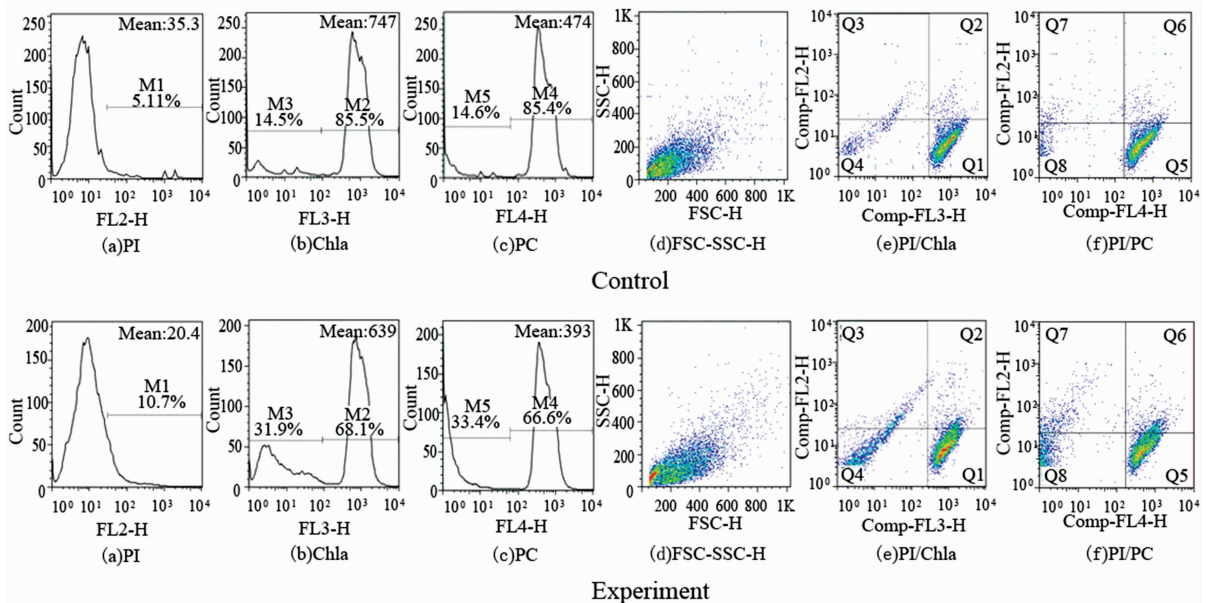


图 4 铜绿微囊藻第 3 d 荧光图

Fig. 4 Fluorescence of *Microcystis aeruginosa* at day 3

比较图 4 和图 5 可知, (a) 图结果显示: 在第 3 d 时, 实验组 PI 荧光的 M1 值为 10.7%, 较对照组 M1 增加了 5.59%, 到了第 7 d, 实验组 PI 荧光逐渐增强, 且出现了双峰现象。此时 M1 为 49.5%, 较对照组第 7 d 增加了 44.28%, 比实验组第 3 d 增加了 38.8%, 表明藻细胞膜完整性被破坏, Sun^[12] 也通过荧光染色分析表明, 菌株 ZJU 上清液主要影响细胞膜, 从而影响藻细胞的膜通透性和膜电位。(b) 图与 (c) 图结果显示: 在第 3 d 时, 对照组 Chla 荧光 M2 值和 PC 荧光 M4 值均大于 85%, 实验组 M2 和 M4 分别为 68.1% 和 66.6%, 明显低于对照组。到了第 7 d, 对照组 M2 和 M4 值均大于 95%, 表明对照组藻细胞生长状态正常, 细

胞膜完整, Chla 和 PC 含量高, 实验组第 7 d 的 M2 和 M4 分别为 58.3% 和 55.0%, 低于对照组。实验组第 7 d 的 M2 值低于第 3 d, 说明在溶藻的整个过程中, Chla 荧光出现明显下降的趋势, 表示随着细菌 S7 的作用, 使原有 Chla 荧光的藻细胞不断变成了无 Chla 荧光的死细胞, 正常藻细胞数量逐步衰减。Li^[13] 的研究结果也证实在溶藻过程中细胞色素含量显著降低, 藻细胞结构和形态受到严重破坏。实验组第 3 d 和第 7 d 的 M4 分别为 66.6% 和 55%, 相比对照组而言, 实验组 PC 荧光变化也呈现下降趋势, 且与 Chla 荧光变化趋势一致。

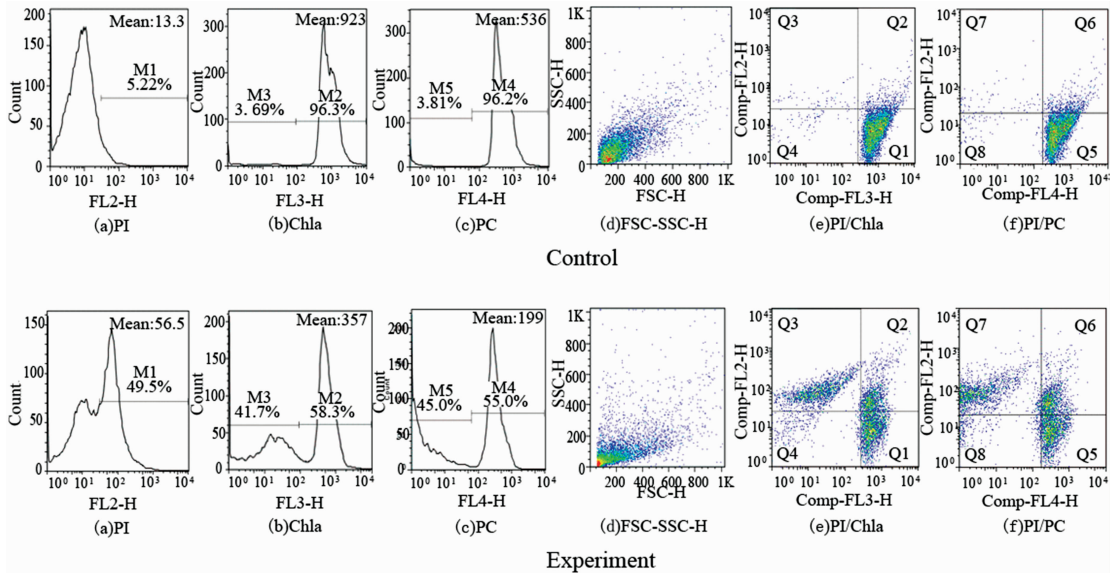


图 5 铜绿微囊藻第 7 d 的荧光图

Fig. 5 Fluorescence of *Microcystis aeruginosa* at day 7

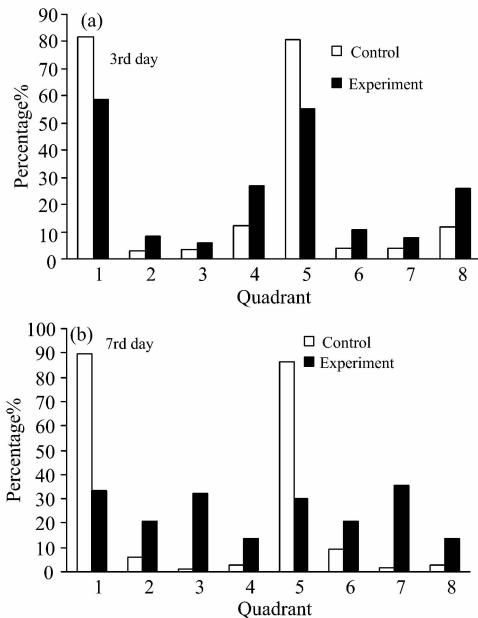


图 6 Q1—Q8 象限铜绿微囊藻百分比分布图

Fig. 6 The percentage distribution of *Microcystis aeruginosa* at Q1—Q8 area

从图 4 和图 5 可以看出, 第 3 d 对照组 PI 荧光值为 35.3, 实验组 PI 荧光值为 20.4, 但到了第 7 d, 对照组 PI 荧光值降至 13.3, 实验组 PI 荧光值增加至 56.8, 对照组 PI 低荧光值说明了对照组藻细胞膜具有良好的完整性。FCM 检测时可以用荧光值代表浓度, 且植物细胞的光合作用与相对荧光强度呈正相关的关系, Chla 和 PC 荧光强度即代表了细胞的代谢强度。从第 3 d 至第 7 d, 对照组 Chla 的荧光值从 747 增至 923, PC 荧光值由 474 增至 536, 这表示对照组藻细胞密度在增加, 藻细胞代谢能力增强, 表现为 Chla 和 PC 荧光值增加。实验组 Chla 荧光值则从 639 降至 357, PC 的荧光值由 393 降至 199, 这表示在细菌的作用下, 藻细胞密度和代谢能力逐渐下降, 表现为 Chla 和 PC 荧光值下降。

(d) 图结果显示: 对照组的颗粒大小没有明显变化, 表示铜绿微囊藻细胞处于正常生长状态。实验组 (d) 图中的颗粒大小发生了变化, 表明细菌的溶藻作用显著。将 (e—f) 图各象限细胞的百分比分布变化进行统计 (见图 6), 由图 6 可知, 在第 3 d, 对照组 PI 拒染的藻细胞占了 94% (Q1+Q4) 和 92.1% (Q5+Q8), 实验组未被 PI 染色的藻细胞为 85.9% (Q1+Q4) 和 81.3% (Q5+Q8), 有 5.88% (Q3) 和 7.76%

(Q7)细胞代表细胞膜已经受损,有 27.1% (Q4)和 26% (Q8)表现为 PI 拒染的死细胞,PI 拒染原因为核酸物质受损,造成 PI 不染,到了第 7 d 对照组 PI 无染色的藻细胞占了 92.57%(Q1+Q4)和 89.24%(Q5+Q8),实验组没有被 PI 染色藻细胞为 46.9% (Q1+Q4)和 43.9% (Q5+Q8),细胞膜受损的细胞分别为 32.4% (Q3)和 35.7% (Q7),比实验组第 3 d 有所上升,另有 13.7% (Q4)和 13.8% (Q8)表现为 PI 拒染的死细胞。这说明随着时间的延长实验组藻细胞逐渐死亡,Chla 和 PC 荧光降低,PI 染色则增强。通过分析可知在坐标轴的各象限中,Chla 和 PC 荧光变化具有一致性,这表明藻细胞在整个生长过程中,Chla 和 PC 的生长代谢、周期性变化呈现正相关的趋势。

综上,细菌 S7 在溶藻过程中的损伤形式表现为:有的无胞膜损伤存在 Chla 荧光(Q1)和 PC 荧光(Q5);有的胞膜损伤但仍存在 Chla 荧光(Q2)和 PC 荧光(Q6),有的胞膜损伤不存在 Chla 荧光(Q3)和 PC 荧光(Q7);有的胞膜损伤不存在 Chla 荧光(Q4)和 PC 荧光(Q8),即部分细胞为死细胞,此处“藻细胞”胞膜和 DNA/RNA 都已经受损。在溶藻过程中,各象限的藻细胞处于动态变化的过程,由 Q1(Q5)区细胞按顺序逐步向 Q4(Q8)区移动。Tan^[14]应用 FCM 研究结果表明:*A marine bacterium Bacillus* sp. Ts-12 使藻细胞 Chla 含量的降低,细胞膜完整性遭到破坏,叶绿体和核结构被破坏。Li^[14]实验结果显示在溶藻过程中塔玛亚历山大藻细胞的形态和结构受到严重损伤,细胞器也受到严重损害。

References

- [1] Eliassen S K, Hatun H, Larsen K M H, et al. *Journal of Marine Systems*, 2017, 169: 99.
- [2] Chernova E, Sidelev S, Russkikh I, et al. *Toxicol*, 2017, 130: 47.
- [3] Alvarez X, Valero E, Cancela A, et al. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(21): 21577.
- [4] Inaba N, Trainer V L, Onishi Y, et al. *Harmful Algae*, 2017, 62: 136.
- [5] Liao C L, Liu X B. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(6): 5925.
- [6] CHAI Tian, LIU Xiao-yu, XU Peng-cheng, et al(柴天, 刘晓宇, 许鹏成, 等). *Journal of Natural Disasters(自然灾害学报)*, 2015, 24(5): 237.
- [7] WANG Jin-xia, LUO Gu-yuan, XU Xiao-yi, et al(王金霞, 罗固源, 许晓毅, 等). *Journal of Shanghai Jiaotong University(上海交通大学学报)*, 2012, 46(5): 780.
- [8] Lee T Y, Tsuzuki M, Takeuchi T, et al. *Analytica Chimica Acta*, 1995, 302(1): 81.
- [9] Beutler M, Wiltshire K H, Arp M, et al. *Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics*, 2003, 1604(1): 33.
- [10] Su J F, Ma M, Wei L, et al. *Marine Pollution Bulletin*, 2016, 107(1): 233.
- [11] Su J F, Shao S C, Ma F, et al. *Chemical Engineering Journal*, 2016, 293: 139.
- [12] Sun P F, Hu C, Wang S, et al. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 301: 65.
- [13] Li Y, Liu L, Xu Y, et al. *Letters in Applied Microbiology*, 2017, 64(1): 57.
- [14] Tan S, Hu X L, Yin P H, et al. *Journal of Microbiology*, 2016, 54(5): 364.

3 结论

(1)利用 UV-Vis 和 EEMs 技术对藻细胞 Chla 含量与 PC 荧光值变化趋势进行分析,结果表明在细菌分泌的溶藻物质的持续作用下,Chla 含量与 PC 荧光值均随着实验时间延长呈现下降趋势,表明在溶藻过程中藻细胞生物量呈现下降的趋势,且伴有 Chla 和 PC 减少。

(2)根据 FTIR 分析显示:藻细胞结构中的 C=O, C—H, O—H 键分别在 1 647, 2 927 和 3 475~3 437 cm^{-1} 处的吸收峰强度明显减弱,意味着藻细胞内的多糖物质和蛋白质结构可能被破坏,处于 2 500~1 700 cm^{-1} 范围的若干小吸收峰则进一步表明藻细胞解体的现象。

(3)应用 FCM 对藻细胞 PI 特异性荧光和 Chla、PC 自发荧光特性进行分析,结果显示,在细菌 S7 的溶藻过程中,藻细胞 PI 特异性荧光逐渐增强,Chla、PC 自发荧光呈下降趋势、表明藻细胞膜、Chla、PC 三者破坏程度在溶藻过程中具有紧密的内在联系和较高的一致性。溶藻过程中藻细胞表现为多种形式的损伤,且损伤处于动态变化过程中,由 Q1(Q5)区细胞按顺序逐步向 Q4(Q8)区细胞移动。

(4)初步推测 *Chryseobacterium* sp. S7 溶藻机理为:溶藻活性物质通过破坏铜绿微囊藻细胞膜中的多糖和蛋白质的结构,损坏细胞膜完整性,进一步破坏胞体内的 Chla、PC、DNA/RNA 等物质,最终使藻体裂解死亡,形成细胞碎片。

Spectra Characteristic and Algicidal Mechanism Of *Chryseobacterium* sp. S7 on *Microcystis Aeruginosa*

WANG Jin-xia¹, LUO Le¹, CHEN Yu-cheng², HE Qing-ming³, ZHAN Ling-ling¹, ZHAO Xue¹

1. Chongqing Vocational Institute of Engineering, Chongqing 402260, China

2. Resource and Environment Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

3. Taizhou University, Taizhou 225300, China

Abstract The proliferation of algae has had a major impact on drinking water sources, aquaculture, tourism and human health. As a kind of biological control, algae-lysing bacteria, have shown great potential in controlling algal blooms. The research group isolated a strain of *Chryseobacterium* sp. S7 in the early stage and found that, by secreting algae-dissolving substances, the strain had obvious algae-dissolving effect on algae in an indirect way. In order to reveal its algae-dissolving characteristics and mechanism, this study, with the *Microcystis aeruginosa* as the target algae species, employed S7 UV-Vis, EEMs, FTIR and FCM techniques to analyze the spectral characteristics of the algae-dissolving process of *Chryseobacterium* sp. S7. By co-culturing the fermentation broth of the strain with the solution of algae for 7 days and by analyzing the change trend of Chla content and PC fluorescence value of algae cells through UV-Vis and EEMs techniques, the research group got the following results: the content of Chla in algae cells began to decrease on the 1st day, which indicated that the extracellular algae-dissolving substances of bacteria could quickly act on algae cells in short time, and the removal rate of Chla was 59.37% on the 7th day. In addition, the fluorescence value of PC cells in algae cells also showed a similar downward trend with the trend of Chla, indicating a decrease in Chla and PC during the algae-dissolving process. The research group found that the absorption peaks of C=O, C-H and O-H bonds in the algal cell structure showed a significant downtrend at 1 647, 2 927 and 3 475~3 437 cm^{-1} respectively, which suggested that the polysaccharide content in algae cells and the protein structure might be destroyed, while several small absorption peaks in the range of 2 500~1 700 cm^{-1} further indicated the phenomenon of disintegration of algae cells. The research group also carried out PI-specific staining of algae liquid on the 3rd and 7th day, and analyzed the PI-specific fluorescence of algae cells and the auto fluorescence characteristics of Chla and PC by FCM technique. The results showed that, the PI-specific fluorescence of cells increased gradually in the algae-dissolving process of bacteria S7, and the autofluorescence of Chla and PC showed a downward trend, indicating that the damage degree of algal cell membrane, Chla and PC had a close internal relationship with each other and high consistency in the algae-dissolving process. During the algae-dissolving process, the algae cells showed various forms of damage, and the damage was in the process of dynamic change, with the Q1 (Q5) quadrant cells gradually moving to the Q4 (Q8) quadrant cells in sequence. Therefore, the possible algae-dissolving process of *Chryseobacterium* sp. S7 could be speculated as follows: The bacteria release the algae-dissolving active substance to the outside of the cell, and the algae-removing active substance changes the structure and permeability of the algal cell membrane by destroying the structure of the polysaccharide and protein in the cell membrane of *Microcystis aeruginosa*, which will further destroy Chla in the cell body, PC, DNA/RNA and other substances. All these will cause the algae to lyse and die, eventually forming cell debris. This study, by analyzing the crystallization characteristics of algae cells in the algae process of *Chryseobacterium* sp. S7, reveals the algae-dissolving mechanism of algae-lysing bacteria, and thus provides a theoretical basis for microbial algae control and restoration technology.

Keywords *Chryseobacterium* sp. S7; *Microcystis aeruginosa*; PI; Chla; PC; Spectra characteristics; Algicidal Mechanism

(Received Jul. 20, 2018; accepted Nov. 9, 2018)