

文章编号: 1674 - 5566(2014)03 - 0411 - 06

## 浒苔纤维素分解菌株的筛选、鉴定与纤维素酶活特性研究

费 岚<sup>1,2</sup>, 邵 飞<sup>1,2</sup>, 贾 睿<sup>1,2</sup>, 胡乐琴<sup>1,2</sup>, 何培民<sup>1,2</sup>

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 海洋科学研究院, 上海 201306)

**摘 要:** 从腐烂浒苔和浒苔暴发区域的海水中筛选出具有纤维素分解能力的菌株, 采用刚果红染色法进行粗选, 得到 8 株透明圈较大的菌株。将 8 株菌株分别接种到 3 种不同碳源的液体发酵培养基, 发酵培养 6 d 后, 分别测定滤纸(FPA)酶活力、羧甲基纤维素(CMC)酶活力与水解浒苔纤维素的效果。8 株菌株中得到 H3、H4、H6、Q1 四种产酶较好的菌株并鉴定。3 种液体发酵培养基中, 以羧甲基纤维素钠为碳源条件下, H3 的 CMC 酶活力最高, 为 56.98 U/mL。H3 与 H4 的浒苔水解效果较好, 还原糖得率分别为 10.4% 和 12.8%。

**研究亮点:** 纤维素制备生物乙醇可能成为绿潮藻暴发导致大量堆积的浒苔的一条有效利用途径。本文所筛选的 8 个菌株具有一定的纤维素分解能力, 通过酶活特性研究提高菌株的降解能力, 为乙醇制备前期的寡糖转化提供一定基础。

**关键词:** 浒苔; 纤维素降解; 菌株; 酶活力

**中图分类号:** S 216.3

**文献标志码:** A

绿潮藻浒苔大规模暴发, 大量堆积的浒苔对海域及城市环境造成了严重的影响。大型海藻含有丰富的碳水化合物, 利用大型海藻研究生物能源也许将成为浒苔有效利用的一条好的途径, 既可以解决海洋生态问题又可以解决能源问题。

张志奇将新鲜海带通过水浴蒸煮制成海带提取液, 然后与酵母液混合后进行密封发酵 7 d, 乙醇最大产率可达 27 mL/kg<sup>[1]</sup>。缪锦来等研究得到酿酒酵母的接种量为 10%、低温纤维素酶用量为 35 U/g 对海藻底物发酵温度为 30 ℃ 和发酵时间为 72 h 的条件下, 乙醇产量最高<sup>[2]</sup>。日本东北大学将马尾藻切碎后加入酶, 使其融化为黏糊泥状物, 然后加入新开发的特殊酵母, 每千克海藻可以提取 200 mL 乙醇, 这种制造方法同样适用于其他大型海藻<sup>[3]</sup>。韩国 KIM 等将从海藻中提取的多糖, 如蛋白多糖、琼脂、角叉胶、淀粉、海藻酸等, 通过酶解或酸解降解为单糖, 然后用微生物发酵的方法将单糖转化为乙醇<sup>[4]</sup>。YOON 等将一种非均相催化剂安装在固定床反应器上, 温度为 110 ~ 200 ℃, 饱和蒸汽压为 1 ~ 20 atm, 海藻

提取物与水的重量比为 0.1:20, 催化剂与提取物的比为 0.05:20, 能连续高效地将海藻提取物水解成可被酵母利用的单糖<sup>[5]</sup>。牟海津等以海藻加工废弃物为原料用硫酸或过氧化氢对原料进行预处理, 加入纤维素酶和纤维素二糖酶进行纤维素复合酶解, 酶解液经过滤后除去不溶性成分, 补充无机盐, 接种酿酒酵母, 在厌氧条件下进行乙醇发酵。硫酸预处理工艺的最终葡萄糖转化率为 31.9%, 乙醇转化率为 42%。过氧化氢预处理工艺最终葡萄糖转化率 22.1%, 乙醇转化率为 40.5%<sup>[6]</sup>。刘政坤利用纤维素酶水解过氧化氢处理过的浒苔, 然后利用酿酒酵母发酵, 100 g 浒苔可转化为 13.2 g 乙醇<sup>[7]</sup>。

浒苔糖类成分分析结果显示, 其纤维素含量为 13.3%、半纤维素含量为 28.01%、淀粉含量为 2.475%、水溶性多糖含量为 11.503%、水溶性戊聚糖含量为 11.25%<sup>[8]</sup>。理论上, 有超过 65% 的碳水化合物可以经降解成为单糖用于制取乙醇, 其中纤维素和半纤维素是比较难利用而物质质量却很大的一部分生物质。

收稿日期: 2013-12-12 修回日期: 2014-02-19

基金项目: 科技部支撑计划项目(2012BACD7B03)

作者简介: 费 岚(1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为绿潮藻能源生物乙醇制备。E-mail: sf.lan@qq.com

通信作者: 何培民, E-mail: pmhe@shou.edu.cn

纤维原料的水解可以通过两种途径来实现,酸水解与酶水解。酸水解对生产设备具有严重的腐蚀性,难以适应大规模的生产生物乙醇<sup>[9]</sup>。纤维素酶是一个酶系的总称,对纤维素类物质具有专一性与高效性<sup>[10]</sup>。利用微生物自产纤维素酶进行水解,设备简单、反应温和并且不污染环境,得到了普遍的认可<sup>[11]</sup>。

本实验针对大面积的绿潮藻浒苔,主要从腐烂的浒苔以及浒苔暴发区域的海水中筛选具有降解作用的微生物,并对其进行酶活特性研究及菌种鉴定,为浒苔资源化利用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品

实验藻类为黄海绿潮暴发的优势种浒苔(*Ulva prolifera*),样品分别采自自然条件生长及绿潮海域密集漂浮的腐烂浒苔藻体,采集地为山东青岛第一海水浴场和第六海水浴场。采集后用保温箱低温运输带回实验室进行微生物筛选。

### 1.2 培养基

实验主要采用纤维素分解菌筛选培养基与诱导产纤维素酶发酵培养基。

纤维素分解菌筛选培养基为:纤维素富集液体培养基、刚果红鉴别平板培养基<sup>[12]</sup>。

诱导产纤维素酶发酵培养基:(1)CMC-Na培养基:酵母浸膏 1 g,蛋白胨 5 g,CMC-Na 10 g,陈海水 1 000 mL,自然 pH。(2)滤纸培养基:酵母浸膏 1 g,蛋白胨 5 g,2 g 滤纸,陈海水 1 000 mL,自然 pH。(3)浒苔培养基:酵母浸膏 1 g,蛋白胨 5 g,浒苔粉 20 g,陈海水 1 000 mL,自然 pH。

以上培养基均  $1 \times 10^5$  Pa 灭菌 30 min 后使用。

### 1.3 浒苔纤维素原料制备

主要以黄海海域大量暴发的绿潮藻为原料,种类主要为浒苔,清洗去除贝壳、沙石等杂物后,清水漂洗 3~4 遍,置于 60 °C 烘箱中 12 h,烘干后用粉碎机粉碎 1 min,过 80 目筛后备用。

### 1.4 纤维素分解菌的筛选

采集样品通过富集培养后稀释一定倍数,于鉴别培养基上培养 1~2 d 后,利用刚果红染色法筛选具有明显透明圈的菌株进行分离纯化,观察降解圈并测量其直径<sup>[13-14]</sup>。

## 1.5 粗酶液的制备

### 1.5.1 粗酶液 1

将分离到的菌株分别接种到装有 50 mL 液体发酵培养基的三角瓶中,30 °C、140 r/min 振荡培养 6~8 d,将培养液于 4 °C、4 000 r/min 离心 15 min,取上清液<sup>[15]</sup>。

### 1.5.2 粗酶液 2

将分离到的菌株分别接种到装有 50 mL 液体发酵培养基的三角瓶中,30 °C、140 r/min 振荡培养 6~8 d,将培养液用两层 200 目纱网过滤除去杂质,取其过滤溶液。

## 1.6 酶活力的测定

### 1.6.1 滤纸(FPA)酶活力测定

1 × 6 cm 滤纸加入 1 mL 柠檬酸缓冲液,1 mL 粗酶液,50 °C 准确保温 1 h 后立即按 DNS 法测还原糖。定义每分钟水解底物生产 1 μg 葡萄糖所需要的酶量为一个酶活力单位 IU<sup>[16]</sup>。

### 1.6.2 CMC 酶活力测定

1 mL 粗酶液加入 1 mL 含 0.5% CMC-Na 的柠檬酸缓冲液,50 °C 准确保温 30 min 后立即按 DNS 法测还原糖。定义每分钟水解底物生产 1 μg 葡萄糖所需要的酶量为一个酶活力单位 IU<sup>[16]</sup>。

## 1.7 浒苔纤维素降解

称取 0.1 g 浒苔粉于试管中,加入 5 mL 粗酶液 2,然后加入 5 mL 柠檬酸缓冲液(pH 4.8)调节 pH,轻轻摇匀,于 50 °C 水浴锅中反应 48 h 后按 DNS 法测还原糖。

## 1.8 菌株鉴定

### 1.8.1 细菌的 16S rDNA 鉴定

对纯化培养后的菌株使用上海生工公司 SK1201 基因组抽提试剂盒提取 DNA。PCR 反应体系:Template(基因组 DNA 20~50 ng/μL) 0.5 μL,引物 7F (5'-CAGAGTTTGATCCTGGCT-3') 和 1540R (5'-AGGAGGTGATCCAGCCGCA-3') 各 0.5 μL (10 μmol/L),5 × Buffer 2.5 μL,dNTP 1 μL,加双蒸水至 25 μL。PCR 循环条件:98 °C、30 min,98 °C、25 s,55 °C、25 s,72 °C、1 min,72 °C、10 min。1% 琼脂糖电泳,150 V、100 mA 20 min 电泳观察。PCR 产物电泳条带切割所需 DNA 目的条带,PCR 产物用 PCR 引物直接测序。16S rDNA 序列在核糖体数据库上对比。

### 1.8.2 真菌的 ITS 鉴定

对纯化培养后的菌株使用上海生工公司 SK 8229 基因组抽提试剂盒提取 DNA。PCR 反应体系: Template(基因组 DNA 20 ~ 50 ng/ $\mu$ L) 0.5  $\mu$ L, 引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCCG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 各 0.5  $\mu$ L (10  $\mu$ mol/L), 5  $\times$  Buffer 2.5  $\mu$ L, dNTP 1  $\mu$ L, 加双蒸水至 25  $\mu$ L。PCR 循环条件: 98  $^{\circ}$ C、30 min, 98  $^{\circ}$ C、25 s, 55  $^{\circ}$ C、25 s, 72  $^{\circ}$ C、1 min, 72  $^{\circ}$ C、10 min。1% 琼脂糖电泳, 150 V、100 mA 20 min 电泳观察。PCR 产物电泳条带切割所需 DNA 目的条带, PCR 产物用 PCR 引物直接测序。ITS 序列在 NCBI 上 Blast 比对。

## 2 结果

### 2.1 分解菌株的分离纯化结果

实验共分离得到 8 株具有纤维素分解能力

的菌株, 从自然腐烂浒苔中分离得到 6 个菌株, 编号为 H1、H2、H3、H4、H5、H6, 从青岛浒苔暴发海域海水中分离得到 2 个菌株, 编号为 Q1、Q2。其中, H1、H2、H3、H4、H5 与 Q1 为细菌, H6 与 Q2 为真菌, 将 8 个菌株接种于羧甲基纤维素钠 (CMC-Na) 平板培养基上, 用刚果红染色以检测其分解 CMC-Na 效果, 其透明圈的大小见表 1。

由表 1 可以看出, H3、H4、H6 和 Q1 这 4 种菌株的透明圈较大, 表明它们可以在羧甲基纤维素钠培养基上较好地生长, 由此可初步判断, 菌株 H3、H4、H6 和 Q1 对纤维素类物质的降解能力和利用能力较强。

### 2.2 不同碳源诱导分解菌株产酶

采用 3 种不同纤维素碳源诱导 8 个菌株产酶, 培养和制备两种粗酶液 (粗酶液 1 和粗酶液 2), 测定 8 种菌株经诱导产生的滤纸酶活力和羧甲基纤维素酶活力, 结果见图 1。

表 1 不同菌株在 CMC 平板上的透明圈

Tab. 1 Lysis zone in CMC plate by different microbial strains

菌株	H1	H2	H3	H4	H5	H6	Q1	Q2
透明圈直径/cm	1.68	1.37	2.59	2.35	1.55	3.05	2.21	1.62

从图 1 结果发现, 滤纸为碳源诱导时, 各菌株的滤纸酶活力差异性不明显, 而 CMC 酶活力存在明显差异, 其中 H3、Q1 的 CMC 酶活力较高, 依次为 16.18 U/mL、12.21 U/mL。羧甲基纤维素钠为碳源诱导时, 各菌株滤纸酶活力和 CMC 酶活力均差异明显, 其中 H3、Q1、H4 的滤纸酶活力较高, 依次为 27.83、24.90、22.28 U/mL, 且其 CMC 酶活力也较高, 依次为 56.98、49.28、45.77 U/mL。浒苔粉为碳源诱导时, 各菌株酶活力差异较大, 其中 H4、H3、Q1、H6 滤纸酶活力较高, 依次为 15.44、15.10、14.49、13.43 U/mL, 且其 CMC 酶活力也较高, 依次为 32.16、29.20、28.98、28.001 U/mL。

实验还发现, 利用 CMC-Na 为碳源诱导菌株产酶效果最好, 且粗酶液 2 中的酶活力始终大于粗酶液 1 中酶活力, 表明酶液经过离心后有损失。

### 2.3 不同碳源诱导菌株降解浒苔效果

采用 3 种不同纤维素碳源诱导 8 个菌株产酶, 培养和制备粗酶液 2, 测定 8 种菌株经诱导产

生的纤维素酶液对天然纤维素浒苔的降解作用, 结果见图 2。

利用滤纸作为纤维素类碳源诱导各菌株产酶, 并用其粗酶液分别降解浒苔粉, 结果发现, 8 个菌株所产的酶液对浒苔粉均有一定的降解作用, 其中 H4、Q1、H6、H3 菌株降解浒苔粉效果较好, H4 得到的还原糖得率最高, 为 5.7%。利用 CMC-Na 作为纤维素类碳源诱导各菌株产酶, 用其粗酶液分别降解浒苔粉, 结果发现, 各菌株所产酶液降解浒苔粉效果差异较大, 其中, H4、H3、Q1 菌株降解效果较好, 还原糖得率依次为 12.8%、10.4%、10.1%。

利用浒苔粉天然纤维素为碳源诱导各菌株产酶, 用其粗酶液分别降解浒苔粉, 结果发现, 各菌株所产酶液降解浒苔粉效果差异也较大, 其中 H6、Q1、H3、H4 降解菌株效果较好, H6、Q1 还原糖得率较高分别为 9.6%、9.9%。

综合上述实验结果, 以 CMC-Na 诱导菌株降解浒苔效果最好, 且与其产酶活力结果相符, 此时 H4 菌株降解浒苔效果最佳。

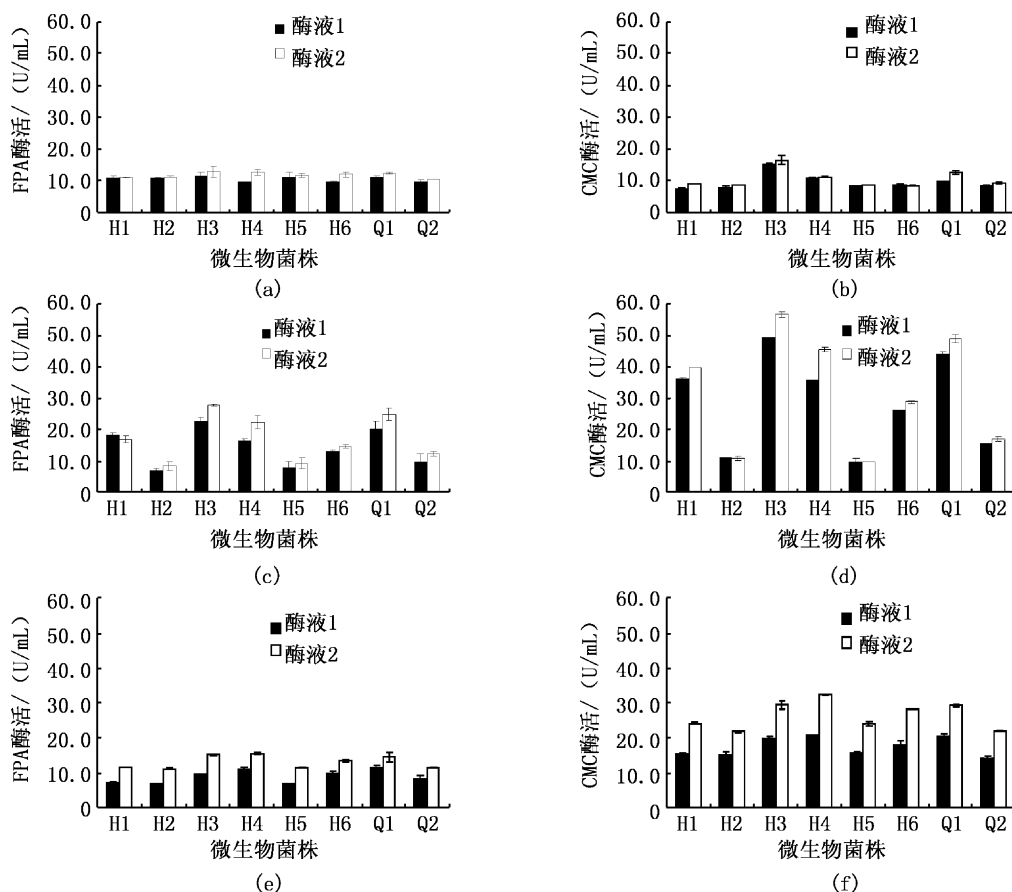


图1 不同碳源对各菌株的FPA酶活力与CMC酶活力的影响

Fig. 1 Effect of different carbon sources on enzyme activity of FPA and CMC from different strains

(a) 滤纸为碳源时各菌株的FPA酶活力;(b)滤纸为碳源时各菌株的CMC酶活力;(c)CMC-Na为碳源时各菌株的FPA酶活力;(d) CMC-Na为碳源时各菌株的CMC酶活力;(e)浒苔粉为碳源时各菌株的FPA酶活力;(f)浒苔粉为碳源时各菌株的CMC酶活力。

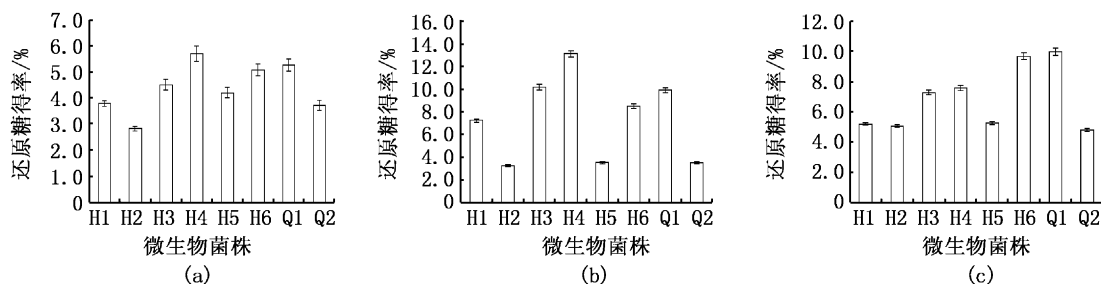


图2 不同碳源诱导各菌株对浒苔降解还原糖得率的影响

Fig. 2 Effect of different carbon sources on the yield of reducing sugar from different strains

(a) 滤纸为碳源诱导各菌株降解浒苔的效果;(b)CMC-Na为碳源诱导各菌株降解浒苔的效果;(c)浒苔粉为碳源诱导各菌株降解浒苔的效果

## 2.4 高效菌株鉴定结果

实验通过各菌株酶活特性的研究及其对浒苔降解效果的测定,确定菌株H3、H4、H6和Q1为效果较好的菌株。其中H3、H4、Q1为细菌,对

其进行16S rDNA鉴定;H6为真菌,对其进行ITS鉴定,结果见表2。

其中H3为芽孢杆菌属,H4为伯克氏菌属,Q1为寡养单胞菌属,H6为草酸青霉。

表 2 四株菌株鉴定结果  
Tab.2 Identified result of four strains

样品	扩增序列	参考物种	登录号	分类	同源度
H3	16S rDNA	<i>Bacillus subtilis</i>	EF210073	Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae; <i>Bacillus</i>	98.5%
H4	16S rDNA	<i>Burkholderia cepacia</i>	AY741343	Proteobacteria; Betaproteobacteria; Burkholderiales; Burkholderiaceae; <i>Burkholderiaceae</i>	98.1%
Q1	16S rDNA	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	GU391033	Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Xanthomonadales; Xanthomonadaceae; <i>Xanthomonadaceae</i>	99.3%
H6	ITS	<i>Penicillium oxalicum</i>	KC344971.1	Fungi Imperfecti; Sphaeropsidales; Discellaceae; <i>Penicillium oxalicum</i>	100%

### 3 讨论

纤维素降解菌的筛选中,利用刚果红覆盖染色法来观察透明圈的大小初步判断产酶能力,但透明圈并不能完全反映降解能力的大小<sup>[17]</sup>,固液体培养条件的不同、菌株生长速率与产酶速率的不同、所产酶系的不同、菌落本身大小的不同等,都有可能造成透明圈大小与其酶活不一致的现象<sup>[18]</sup>。实验中筛选得到的菌株 H6 透明圈较大,但测定酶活力时却未表现出高于其他优势菌株的活力,主要因为其为真菌,自身菌落较大,导致透明圈较大。

自然界中能分解纤维素的生物主要为真菌类及部分细菌,以木霉、曲霉、青霉的能力最为突出<sup>[19-20]</sup>。本实验中筛选得到的 8 株菌株中,有两株为真菌类且均为霉菌,其中 Q2 未表现出较高的分解能力,H6 为青霉属,具有较高的分解天然纤维素的能力。本实验所用材料均采自自然海域,筛选到的纤维素分解菌株多数为细菌,由此可推论在海洋环境中具有纤维素分解能力的细菌生存能力较强。实验得到 H3、H4 与 Q1 菌株的酶活特性与分解能力均高于 H6 菌株,这可能与本实验中采用的筛选培养基与诱导培养基均采用海水配制有关。

不同的碳源诱导对菌株产酶液的形成有较大的影响,张毅民等<sup>[21]</sup>通过不同碳源诱导一种菌株产酶并测其滤纸酶活力,结果发现,以麸皮和羧甲基纤维素为碳源时,该菌株的滤纸酶活力最高,以滤纸为碳源时次之,以葡萄糖和蔗糖为碳源时最低。本实验中利用 3 种不同的纤维素类碳源,滤纸、羧甲基纤维素钠、浒苔粉对 8 株菌株进行诱导产酶,结果发现,羧甲基纤维素钠的诱

导效果最好,产酶的活力最高,浒苔粉次之,滤纸最低。这也与各菌株在不同碳源诱导下产酶对天然纤维素浒苔粉的分解能力相一致。尹礎等<sup>[22]</sup>研究发现纤维素酶诱导可能是通过小分子还原糖间接实现的,仅具有还原性基团的低聚糖才能诱导产纤维素酶,而大分子纤维素对酶的诱导效果不及小分子还原糖。故后面实验中若添加葡萄糖辅助诱导产酶效果可能会更佳。

酶液 2 的各项酶活与分解作用均大于酶液 1,由此可以看出,低温高速离心对纤维素酶活力具有一定的影响,其中可能有部分纤维素酶在离心时附着在沉淀上被滤除。酶液 2 不经过高速离心直接使用,是一种带菌体的酶液,在酶解过程中菌体仍能生长产酶,对酶解效果有一定的提升。而且低温高速离心操作对设备要求较高,耗费较大,相反直接利用酶液操作简单,不需要额外的成本消耗,对今后产业化利用具有一定的发展空间。

### 参考文献:

- [1] 张志奇. 海带发酵生产乙醇及其影响因素的研究控制[J]. 能源工程, 2009(6): 9-15.
- [2] 缪锦来,郑洲,梁强,等. 海带纤维低温酶解和制备生物乙醇的研究[J]. 现代农业科技, 2010(17): 18-20.
- [3] 陈姗姗,潘诗翰,董蓉,等. 褐藻燃料乙醇研究进展及其应用前景[J]. 中国酿造, 2011(4): 11-15.
- [4] KIM G S, SHIN M K, KIM Y J, et al. Method for producing biofuel using seaalgae: No. PCT/KR2008/001102 [P]. 2008.
- [5] YOON Y S, GOH G H, SONG J H, et al. Method for producing biofuels via hydrolysis of seaweed extract using heterogeneous catalyst: No. PCT/KR2010/1Do1158 [P]. 2010.
- [6] 牟海津,葛蕾蕾,王鹏. 一种以海藻加工废弃物为原料

- 的生物乙醇的制备方法: No. CN101701225A [P]. 2010.
- [7] 刘政坤. 低值海藻浒苔生物乙醇转化工艺的研究[D]. 青岛:中国海洋大学, 2011.
- [8] 张维特, 时旭, 欧杰, 等. 酸法水解绿潮藻生物质及发酵制乙醇的效果[J]. 上海海洋大学学报, 2011, 20(1): 131-136.
- [9] 黄爱玲, 周美华. 玉米秸秆水解的酶法与烯酸法比较[J]. 东华大学学报:自然科学版, 2005, 31(5): 110-114.
- [10] 肖春玲, 许常新. 微生物纤维素酶的应用研究[J]. 微生物学杂志, 2002, 22(2): 33-35.
- [11] 吴薇, 田世杰, 顿宝庆, 等. 高效木质素酶产生菌的分离筛选[J]. 食品科技, 2010, 30(1): 10-14.
- [12] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 1998.
- [13] 李日强, 辛小芸. 天然秸秆纤维素分解菌的分离选育[J]. 上海环境科学, 2002, 21(1): 8-11.
- [14] 王晓芳, 徐旭士, 吴敏, 等. 一株纤维素分解菌的分离与筛选[J]. 生物技术, 2001, 11(2): 27-30.
- [15] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验[M]. 3 版. 北京: 人民教育出版社, 2004: 17-30.
- [16] 陈晨, 解玉红, 冯妍, 等. 纤维素降解菌的分离及单菌株与菌群纤维素酶活性性质[J]. 天津理工大学学报, 2012, 28(4): 62-65.
- [17] TEACHER R M, WOOD P J. Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1982, 43(4): 777-780.
- [18] 房兴堂, 陈宏, 赵雪锋, 等. 秸秆纤维素分解菌的酶活力测定[J]. 生物技术通讯, 2007, 18(4): 628-630.
- [19] WEN Z Y, LIAO W, CHEN S L. Production of cellulase by *Trichoderma reesei* from dairy manure [J]. Bioresource Technology, 2005, 96(4): 491-499.
- [20] PANAGIOTOU G, KEKOS D, MACRIS B J, et al. Production of cellulolytic and xylanolytic enzymes by *Fusarium oxysporum* grown on corn stover in solid state fermentation [J]. Ind Crops and Products, 2003, 18(1): 37-45.
- [21] 张毅民, 吕学斌, 万先凯, 等. 一株纤维素分解菌的分离及其粗酶性质研究[J]. 华南农业大学学报, 2005, 26(2): 69-72.
- [22] 尹礎, 夏先乐, 刘建设, 等. 一株纤维素降解菌株的分离鉴定及产酶特征研究[J]. 环境科学与技术, 2009, 32(3): 50-53.

## Isolation and identification of *Ulva prolifera* cellulase-producing strains and characterization of their cellulase-producing capability

FEI Lan<sup>1,2</sup>, SHAO Fei<sup>1,2</sup>, JIA Rui<sup>1,2</sup>, HU Le-qin<sup>1,2</sup>, HE Pei-min<sup>1,2</sup>

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Institute of Marine Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** Green tide outbreak results in massive *Ulva prolifera* accumulation in coast China. Because *Ulva prolifera* has high proportion of cellulose content, it can be used as the raw material for manufacturing bio-ethanol when cellulose degradation produces oligosaccharides. In this study, by using Congo red staining method, eight larger lysis zone strains which have the ability of cellulose-decomposing were obtained from rotted *Ulva prolifera* and green tide outbreak sea area. Cellulose enzyme activity characteristics and the ability to decompose *Ulva prolifera* of each strain were studied and high cellulose enzyme activity strains were identified. Enzyme activity of FPA and CMC in strains H3, H4, H6 and Q1 was higher than others, and carboxymethylcellulose as carbon source induced enzyme work best. Enzyme activity of CMC in the strain H3 was the highest (56.98 U/mL). And the best reducing sugar yield were 10.4% and 12.8% from strain H3 and strain H4. All the four strains were obtained by morphological identification and molecular biology identification. The experiments show that *Ulva prolifera* can be used as a raw material for preparation of bio-ethanol, and the screened strains can used for cellulose degradation.

**Key words:** *Ulva prolifera*; cellulose degradation; strain; enzyme activity