

几种因子对丛粒藻株 A 的效应

王修垣 谢树华

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

摘要 研究了温度、NaF 和细菌对丛粒藻(*Botryococcus braunii* Kütz.) 纯培养物 A 的效应。该藻最适生长温度为 25℃。NaF 0.1mg/L 促进该藻生长。该藻与棒杆菌协同培养可提高产烃量, 由无菌对照的 0.089g/L 提高到 0.392g/L, 总烃水平由 5.6% 提高到 24.2%。

关键词 丛粒藻, 产烃, 协同培养, 再生能源

由于丛粒藻(*Botryococcus braunii* Kütz.) 的产烃量比其它藻类(约为其生物量干重的 0.1%^[1], 下同)异常的高, 通常为 25%~40%^[2], 而在天然样品(为该藻的水华样品)中最高达 86%^[3]而引起关注。在一些国家开展了将该藻作为可再生资源可能性的研究课题^[4~7]。前文报道了固定化丛粒藻细胞产烃^[8]和三株丛粒藻烃类的气相色谱-质谱分析^[9]的结果。为提高该藻的产烃量, 研究了温度、NaF 和加入细菌对 *B. braunii* 藻株 A 的效应。本文报道得到的结果。

1 材料和方法

1.1 藻种和细菌

B. Braunii A 购自中国科学院武汉水生生物研究所, 编号 357; 为德克萨斯大学菌种保藏中心(Austin, Tx)的纯培养物。*Bacillus* sp. 109 和 *Corynebacterium* sp. 22-1 由本所杨彦希先生惠赠。

1.2 培养基和培养条件

基础培养基为改良的 Chu 13 培养基^[10]。在 250ml 三角瓶中装 100ml 培养基, 接入在 G21-KLC 型制冷恒温光照摇床(New Brunswick Scientific Co., Inc.) 内 25℃、180r/min、3500 Lx 培养 21d 的藻种液 25ml。接种物置于与此相同的条件下培养 21d, 进行有关项目的分析测定。

1.3 测定方法

1.3.1 生物量的测定: 取 5ml 培养液经恒重的

滤纸抽滤后, 加 25ml 蒸馏水洗涤, 置 80℃ 干燥 1d, 称其干重。

1.3.2 产烃量的测定: 方法见文献[10]。

2 结果和讨论

2.1 温度的效应

试验在温度梯度摇床 TN-3F 型(Toyo Kagaku Sangyo Kaisha, Ltd. Japan) 上进行。为克服弯试管装在床内光照不足, 在其上加装了两支 100W 的日光灯管。照度约 2400 Lx, 测试温度范围为 15~34℃。结果(图 1)表明,

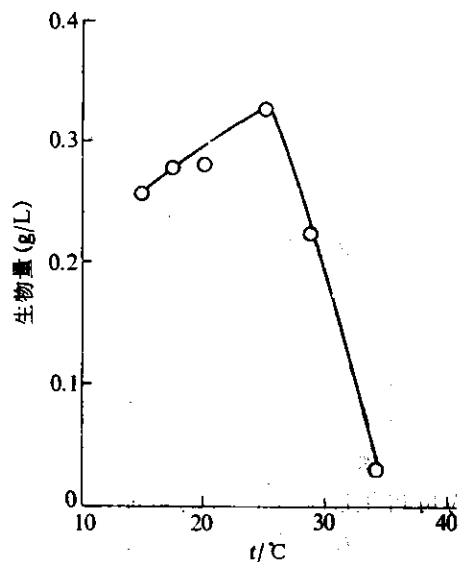


图 1 温度对 *B. braunii* A 的效应

B. braunii A 的最适生长温度为 25℃; 高于此温度, 生长迅速下降; 其生长温度上限位于 28~30℃。Lupi 等^[11]测定过 *B. braunii* UC58 的生长和胞外多糖合成对温度的依赖性, 其最适温度为 25~30℃。与此相比, 藻株 A 的最适生长温度偏低、范围较窄。

2.2 NaF 的效应

向基础培养基中加入不同浓度的 NaF, 培养 21d 后测藻株 A 的生物量。从图 2 可以看出, NaF 0.1mg/L 对该藻株的生长有明显的促进作用, 该藻的生物量由 0.71mg/L 增加到 0.89mg/L。当 NaF 浓度提高到 0.25mg/L 时, 生物量即下降低于未加 NaF 的对照的水平。这表明, 0.25mg/L NaF 抑制该藻株的生长。此抑制浓度与许常虹等用同一藻株测得的 0.6~1.0mg/L 不同^[12]。应该指出的是, 他们在此项试验中, 对群生丛粒藻生长的测定用的是光密度法。

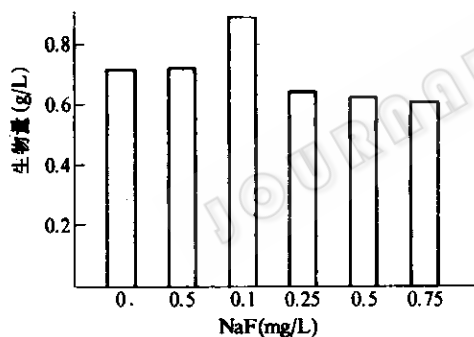


图2 NaF 对 *B. braunii* A 的效应

2.3 细菌协同培养 (associated culture) 的效应

丛粒藻株 A 无伴生的细菌, 适于进行加入已知菌协同培养的研究。在天然生境中, 藻类处于与其它微生物共处的复杂体系中, 而在大规模培养藻类时也难以保持其纯培养。因此, 研究丛粒藻-细菌体系的相互关系, 对于该藻作为可再生能源生产者的可能性具有重要意义。为此, 选用了两种在水域中常见的细菌——*Bacillus* sp. 109 和 *Corynebacterium* sp. 22-1 分别与该藻混合培养, 加入量为牛肉汁斜面上生长 3~4d 的菌苔制成的菌悬液 1%, 并以未加细菌的藻培养物为对照。生物量和产烃

量的测定结果(表 1)指出, 加入芽孢杆菌 109 对该藻的生长和产烃有一定的抑制作用; 加入棒杆菌 22-1, 协同培养物的生物量与对照相当, 但产烃量显著增加, 由每 L 培养液 0.089g 提高到 0.392g, 总烃水平由 5.6% 提高到 24.2%。Chirace 等^[13]在丛粒藻与细菌的协同培养中看到了复杂的关系, 既有促进作用的, 也有抑制作用的。细菌的加入可提高该藻产烃量的结果意味着, 通过该藻与细菌的特定配伍, 有可能为该藻生产烃类提供适宜的条件。

关于加入 NaF 和细菌的促进作用的机理有待进一步研究。

表 1 丛粒藻与细菌协同培养的效应*

试 验	生物量 干重 g/L	烃产量 g/L	烃量占生 物量的 %
丛粒藻株 A(对照)	1.59	0.089	5.6
<i>Bacillus</i> sp. 109	0.12	0	
藻株 A+细菌 109	1.69	0.030	1.8
<i>Coryneb.</i> sp. 22-1	0.03	0	
藻株 A+细菌 22-1	1.62	0.392	24.2

* 三次试验的平均值

参 考 文 献

- [1] Weete J D. Chemistry and Biochemistry of Natural Waxes. ed. by P. E. Kolattukudy, Amsterdam: Elsevier, 1976.
- [2] Wake L V, Hillen L W. Aust J Mar Freshwater Res. 1981, 32: 353.
- [3] Brown A C, Knights B A, Conway E. Phytochemistry, 1969, 8: 543.
- [4] Hillen L W, Wake L V. AIE National Conference, Newcastle, 5~9, Feb. 1979, N18~25.
- [5] Largeau C, Casadevall E, Berkalo C. Phytochemistry, 1980, 19: 1081~1085.
- [6] Backofen R. Experimentia, 1982, 38: 47.
- [7] Dote Y, Sawayama S, Yokoyama S. Prepr Pap of Am Chem Div Fuel Chem, 1992, 37(4): 1836~1839.
- [8] Lianwan Yang, Xiuyuan Wang. Revue Roumaine de Chimie, 1989, 34(1): 397~401.
- [9] 王修垣, 宋一涛, 赵 岭. 微生物学报, 1996, 36(4): 284~291.
- [10] Largeau C, Casadevall E, Berkalo C. et al. Phytochemistry, 1980, 19: 1043~1051.
- [11] Lupi F M, Fernandes H M L, Sa-Correia I, et al. J

Appl Phycol, 1991, 3(1): 35~42.

[13] Chirac C, Casadevall E, Largeau C, *et al.* J Phycol, 1985, 21: 380~387.

[12] 许常虹, 俞敏娟. 水生生物学报, 1988, 12(1): 90~93.

EFFECTS OF SEVERAL FACTORS ON *BOTRYOCOCCUS BRAUNII*

Wang Xiuyuan Xie Shuhua

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing 100080)

Abstract The effects of temperature, NaF and associated culture with bacteria on the axenic strain A of *Botryococcus braunii* Kützinger were studied. Results indicated that its optimum temperature was about 25°C, the presence of *Bacillus* sp., or *Corynebacterium* sp. exhibited a stimulatory effect on hydrocarbon biosynthesis. When the alga associated with *Corynebacterium* sp. 22-1, the hydrocarbon level was enhanced from 5.6%(without bacteria) to 24.2% of total biomass.

Key words *Botryococcus braunii*, hydrocarbon production, associated culture, renewable energy resource