

Study on Optimization of Algae-Lysing Conditions of Algae-lysing Bacteria Z05

Haiyu WANG, Fang ZHAO, Peishi SUN

Researchinstitute of engineering and technology,Yunnan University,Kunming ,China,650091

Email: why77_0@163.com

Abstract: Algae-lysing bacteria Z05 was isolated from the Dianchi lake, that showed very strong lysing effect on Microcystis. To optimize the conditions of the strain Z05 to algae-lysing, and the best conditions included: pH7-8, 37°C, 150 r/min, and The amount of algae residue about 2.5%-5%. Also, the passage did not influence on the lysing effect within three generations.

Keywords: Bacteria; algae-lyse; optimize; condition

溶藻细菌 Z05 的溶藻条件优化研究

王海玉, 赵芳, 孙珮石

云南大学工程技术研究院 昆明 650091

Email: why77_0@163.com

摘 要:从滇池水样中分离到一株对蓝藻藻渣具溶解作用的细菌 Z05, 对其溶藻条件进行了优化, 结果显示 Z05 在温度 37°C、pH 7-8、藻渣量为 2.5%-5%、摇床转速为 150 r/min 时溶藻效果最好, 三代以内传代对溶藻效果没影响。

关键词: 细菌; 溶藻; 条件优化

1 引言

目前文献报道的对于溶藻细菌的研究主要包括两个方面。第一溶藻菌的分离鉴定^[1-4]; 第二细菌的溶藻方式探讨^[5-8]。细菌的溶藻方式研究较多, 溶藻方式主要包括直接溶藻和间接溶藻两种。对于溶藻菌的溶藻条件研究相对较少, 大多数文献仅仅对溶藻菌起作用的菌体密度下限作了限定^[1-9]。许珂^[10]等对 W5 菌的培养条件进行了优化, 目前为止笔者还没有发现关于溶藻菌溶藻条件的相关研究。对于溶藻菌溶藻条件进行优化, 把溶藻效果提高了 10 倍。有利于推进溶藻菌从实验室向工业应用的转化。本文对溶藻菌 Z05 的溶藻条件进行了优化, 为 Z05 的下一步应用提供数据参考。

2 材料与方法

溶藻细菌 Z05 分自滇池

2.1 温度对 Z05 溶藻效果的影响

将等浓度的 z05 发酵液(细菌初始浓度 $\times 10^7$)200 mL 加入到等体积藻渣稀释液中(含藻渣 5 g), 混匀, 置于恒温培养箱中静止培养, 进行溶藻。设置 4 个温度梯度分别为 25°C、30°C、37 °C 和 45°C, 每个温度梯度设置一个重复, 同时设置一个对照, 其中对照加等量灭活菌液。每天观察个试验组的溶藻现象, 待肉眼可见明显效果时测定各试验组的叶绿素含量。首先测定初始叶绿素含量, 通过测定叶绿素含量的变化来探索温度对溶藻的影响。

2.2 摇床转速对 Z05 溶藻效果的影响

将等浓度的 z05 发酵液(细菌浓度 $\times 10^7$)200 mL 加入到等体积藻渣稀释液中(含藻渣 5g), 混匀, 置于摇床上进行溶藻。设置 3 个摇床转速分别为 0 r/min、50 r/min 和 120 r/min, 每个梯度设置一个重复, 同时设置一个对照, 其中对照加等量灭活菌液。首先测定初始叶绿素含量, 通过测定叶绿素含量的变化来探索摇床转速对溶藻的影响。

2.3 藻渣量对 Z05 溶藻效果的影响

将等浓度的 z05 发酵液(细菌浓度 $\times 10^7$)200 mL 加入到等体积藻渣稀释液中, 设置 4 个藻渣稀释梯度, 分别为 3g/200ml、5g/200ml、10g/200ml 和 20 g/200ml 进行溶藻试验, 每个梯度设置一个重复, 一个对照, 对照加等量灭活菌液。首先测定初始叶绿素含量, 带肉眼可观察到明显溶藻效果时, 测定个试验组的叶绿素含量, 通过测定叶绿素含量的变化来探索藻渣量对溶藻的影响。

2.4 初始 pH 对 Z05 溶藻效果的影响

将等浓度的 z05 发酵液(细菌浓度 $\times 10^7$ /ml) 200 mL 加入到等体积藻渣稀释液中, 其中含藻渣 5g。设置 5 个 pH 梯度, 分别为 pH5、pH6、pH7、pH8 和 pH9, 相同条件下进行溶藻实验。每个梯度设置一个重复, 同时设置一个对照, 其中对照加等量灭活菌液。测定初始叶绿素含量, 待肉眼可观察到明显溶藻效果时测定各试验组叶绿素含量, 通过测定叶绿素含量的变化来探索初始 pH 对溶藻的影响。

2.5 传代对 Z05 溶藻效果的影响

以冰箱保存的菌种 z05 为第一代, 连续传第二、第三代。分别将第一代、第二代、第三代 z05 发酵液 200 mL 设置为相同浓度(细菌浓度 $\times 10^7$ /ml), 加入到等体积藻渣稀释液中, 其中含藻渣 5g。每个试验组设置一个重复, 同时设置一个对照, 其中对照加等量灭活菌液。测定初始叶绿素含量, 带溶藻效果明显时测定各试验组叶绿素含量, 通过测定叶绿素含量的变化来探索菌株传代对溶藻的影响。

3 结果与讨论

3.1 温度对 Z05 溶藻效果的影响

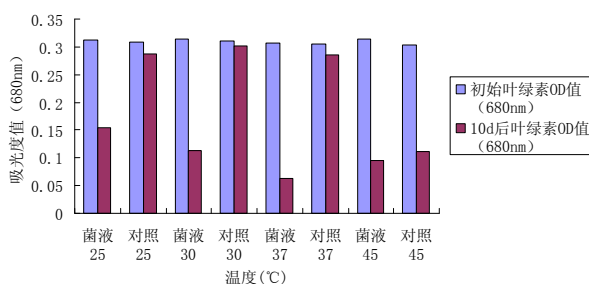


Figure 1. The effect of emperature to Z05 On the lysing effect

图 1. 温度对 z05 溶藻效果的影响

由图 1 可知, Z05 与稀释藻渣共培养 10 天, 37°C 培养物的叶绿素含量明显低于其它试验组。所以, 在 25°C-45°C 之间时, 37°C 是 z05 的最佳溶藻温度。前期的研究表明 37°C 是 z05 的最适生长温度, 这时细菌繁殖能力强, 代谢旺盛, 产生的溶藻物质多, 所以溶藻

效果好, 另外, 蓝藻在温度超过 30°C 时生长会受到抑制^[11], 而细菌 Z05 在 37°C 则是最佳生长温度, 这也是 37°C 溶藻效果最好的原因之一。25 和 30 时对照组叶绿素含量与初始叶绿素含量差别不大, 45 时对照组的叶绿素含量明显低于初始水平, 说明对照组藻也大量死亡, 这可能是由于 45 的温度已经严重抑制了蓝藻的正常生长。因此, z05 菌的最佳溶藻温度应该控制在 37°C。

3.2 摇床转速对 Z05 溶藻效果的影响

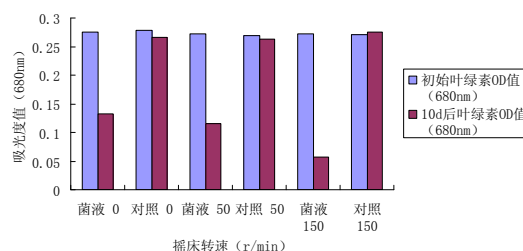


Figure 2. The effect of rotate speeds to Z05 On the lysing effect

图 2 摇床转速对 z05 溶藻效果的影响 (叶绿素含量的变化)

图 2 显示, 摇床转速在 0-150 r/min 之间时, Z05 的溶藻效果与摇床转速成正相关的关系, 摇床转速越大, 溶藻效果越好。这可能是由于震荡有利于细菌的生长繁殖, 同时震荡使得细菌产生的溶藻物质均匀分布, 有利于 Z05 溶藻。摇床转速并不是越大越好, 因为转速超过 150 r/min, 蓝藻容易附着在器壁上, 不利于细菌溶藻, 同时会造成比较大的误差。所以, 在实验条件下, Z05 溶藻的最佳摇床转速为 150 r/min。

3.3 藻渣的量对 Z05 溶藻效果的影响

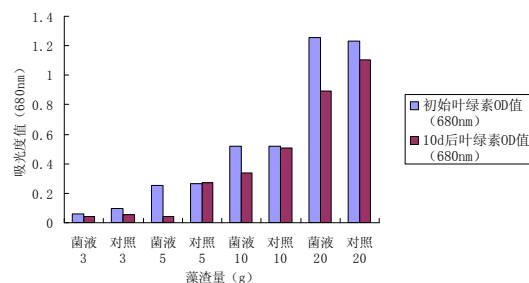


Figure 3. The effect of The amount of algae residue to Z05 On the lysing effect

图 3 藻渣量对 z05 溶藻效果的影响

从图 3 可以看出, 在菌液量一定的情况下, 加藻量大约为 2.5%-5% 时, 溶藻效果最明显。藻量大于 5% 时, 溶藻效果与蓝藻含量成负相关关系。藻渣量过少, 不利于叶绿素含量的测定, 试验误差大; 藻渣的量过多, 大于菌体的溶藻能力时, 溶藻效果会变差。所以, Z05 溶藻时藻渣量要控制在 2.5%-5%。

3.4 初始 pH 对 Z05 溶藻效果的影响

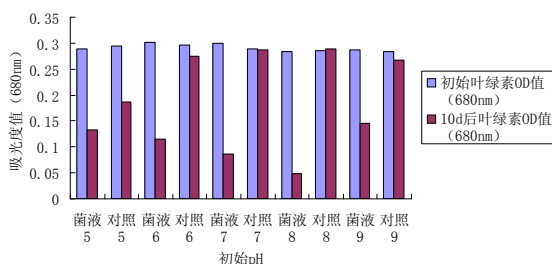


Figure 4. The effect of pH to Z05 On the lysing effect

图 4. 初始 pH 对 z05 溶藻效果的影响 (叶绿素含量的变化)

由图 4 可知, 初始 pH 为 8 时, z05 的溶藻效果最好。研究表明 z05 的最适生长 pH 为 5-10, 而蓝藻生长的最适 pH 为 6-9, 这是 pH 为 5 时对照组叶绿素含量明显下降的原因。初始 pH 过大或者过小均不利于 Z05 溶藻的发生, 这与 Z05 生长的最适 pH 有关。可能 pH8 时有利于溶藻物质的产生, 并且溶藻物质发挥作用的最佳 pH 为 8

3.5 传代对 Z05 溶藻效果的影响

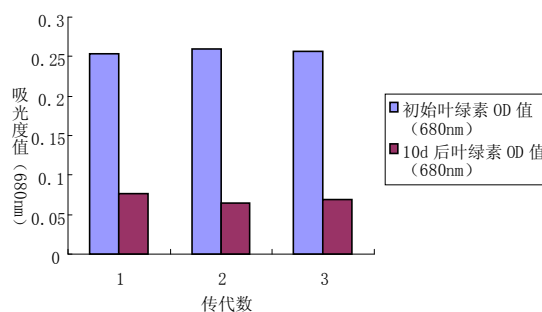


Figure 5. The effect of passage to Z05 On the lysing effect

图 5 菌株传代对 z05 溶藻效果的影响

由图 5 可以看出, z05 菌株经传代三代以内, 溶藻效果没有出现降低。一般细菌溶藻效果受到传代的影响, 几代以后溶藻特性消失。Z05 具有更好的稳定性。这对菌种的利用及进一步研究非常有利。

References(参考文献)

[1] PENG Chao; WU Gang; XI Yu; XIA Yan-hua; ZHANG Ting; ZHAO Yi-jun. Isolation and Identification of Three Algae-Lysing Bacteria and Their Lytic Effects on Blue-Green Algae (Cyanobacteria)[J]. Research of Environmental Science. 2003, (1): 37-56.

彭超,吴刚,席宇,夏燕华,张婷,赵以军. 3株溶藻细菌的分离鉴定及其溶藻效应[J]. 环境科学研究, 2003, (1): 37-56.

[2] ZHENG Xiao-ping; XIE Jun; LIU Bo; YIN Guo-jun; XU Pao. Separation and Lytic Study of One Algae-lysing Bacteria[J]. Journal of Huaihai Institute of Technology, 2005, (1):69-71.

郑小平,谢骏,刘波,殷国俊,徐跑. 一株溶藻细菌的分离鉴定及其溶藻效应初探[J]. 淮海工学院学报(自然科学版), 2005, (1):69-71.

[3] PEI Hai-yan; HU Wen-rong; QU Yin-bo; MU Rui-min; LI Xiao-cai. Algae-lytic character and its identification of one Algae-Lysing bacterium[J]. China Environmental Science, 2005, 25(6):796-802.

裴海燕,胡文容,曲音波等. 一株溶藻细菌的分离鉴定及其溶藻特性[J]. 环境科学学报, 2005, 25(6):796-802.

[4] PEI Haiyan; HU Wenrong; QU Yinbo; MU Ruimin; LI Xiaocai. Isolation and identification of one algae-lysing Bacteria and its lytic character[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2005, 25(3):283-287.

裴海燕,胡文容,曲音波等. 一株溶藻细菌的溶藻特性及其鉴定[J]. 中国环境科学, 2005, 25(3):283-287.

[5] LI Xiao-cai; HU Wen-rong; PEI Hai-yan; TU Kai-feng. Research on Algicidal Effect of an Algae-lysing Bacterium (Strain P15) [J]. Acta Scientiae Circumstantiae 2006, 22(19):8-11.

李小彩,胡文容,裴海燕,涂开封. 一株溶藻细菌(P15)的溶藻效应研究[J]. 中国给排水, 2006, 22(19):8-11.

[6] CHEN Feng-lan; MU Rui-min; YANG Xiao-yu. Study on Algae Removal Experiment by Bacteria of Bacillus Badius[J]. Journal of Environmental Management College of China, 2006,(3): 52-53.

陈凤兰,母瑞敏,杨小钰. 利用栗褐芽孢杆菌除藻的试验研究[J]. 中国环境管理干部学院学报, 2006, (3): 52-53.

[7] Zhao Chuanpeng; Pu Yuepu; Yin Lihong; Lü Xiwu; Li Xianning. Isolation and algicidal effect of a lytic Microcystis bacterium from Taihu Lake[J]. Journal of Southeast University (Natural Science Edition), 2005, (04): 602-606.

赵传鹏,浦跃朴,尹立红,吕锡武,李先宁. 溶微囊藻菌的分离与溶藻作用[J]. 东南大学学报(自然科学版), 2005, (04): 602-606.

[8] WU Weizhong; AN Chengcai; LIU Xinyao; WU Xianghong; WEN Donghui; SHI Miao. Preliminary Research on Alga Removal Characteristics and Efficiency of the Algae-Lysing Bacterium (Strain B_5)[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinesis, 2003, (04): 489-493.

吴为中,安成才,刘新尧,伍向弘,温东辉,石苗. 溶藻细菌(B_5)的溶藻效果与溶藻特性的初步研究[J]. 北京大学学报(自然科学版), 2003, (04): 489-493.

[9] WU Gang; XI Yu; ZHAO Yijun. The Latest Development of Research on Algae-Lysing Bacteria[J]. Research of Environmental Sciences, 2002, 15(5):43-46

吴刚,席宇,赵以军. 溶藻细菌研究的最新进展[J]. 环境科学研究, 2002, 15(5):43-46.

[10] XU Ke; WU Gang; YU Wen-ping; ZHAO Jin; ZHAO Yi-jun. Optimal Cultivation Conditions and Fermentation Technology of Algae-lysing Bacterium W5[J]. Environmental Science & Technology, 2009, 32(2):12-15.

许珂,吴刚,余文平,赵进,赵以军. 溶藻细菌W5培养条件优化及发酵培养[J]. 环境科学与技术, 2009, 32(2): 12-15.

[11] Reynolds C S, Huszar V, Kruk C, et al. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton [J]. J Plankton Res, 2002, 24(5): 417-428