

湖光微生物饲料添加剂研究*

II. 光合细菌生产性培养的主要技术参数研究

李勤生

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

提要

湖光微生物饲料添加剂主要由红假单胞菌属 (*Rhodopseudomonas*) 和红螺菌属 (*Rhodospirillum*) 的菌株组成。其生产性培养的主要技术参数研究包括培养基、光照、pH、温度和通气条件以及接种量等。在适宜条件下, 培养 3—5d 培养液呈深红色, 细胞数可达 10^9 ml^{-1} 。本品在室温下保存半年后施用仍效果良好; 在 40℃ 黑暗条件下存放 15d, 大部分细胞仍可存活。本文还提供了培养物质量检测指标。

关键词 光合细菌, 红假单胞菌, 红螺菌, 微生物饲料添加剂

饲料是发展养殖业的基础。依据我国人多地少的基本国情, 不可能仅靠发展传统农业生产解决饲料来源。因此, 开辟新的饲料资源和添加剂对促进我国养殖业的发展具有特别重要的战略意义。光合细菌是一类具有多种生理功能的微生物类群。它们的菌体富含蛋白质, 包括人和动物所必需的各种氨基酸, 还有维生素、天然色素和生理活性物质。应用光合细菌处理高浓度有机废水和利用其培养物作为饲料添加剂的研究在日本已取得显著进展, 在国内亦陆续有关光合细菌在水产养殖中应用的报道^[1-4]。当前亟待解决的是批量生产的技术问题。本研究目的即在于提供生产性培养光合细菌的主要技术参数, 以促进实现工厂化生产, 满足养殖业发展的需要。

1 材料和方法

1.1 菌种来源 由本所分离保存的光合细菌株, 包括红假单胞菌属 (*Rhodopseudomonas*) 和红螺菌属 (*Rhodospirillum*) 的成员^[5]。湖光微生物饲料添加剂为它们的混合培养制剂, 简称湖光 I 号。

1.2 培养基质的选择 先后选用 8 种不同配方培养基 (PSB₁、PSB₂、PSB₃、PSB₄、PSB₅、PSB₅₁、PSB₆、PSB_D) 和味精厂、淀粉厂、油脂厂废水, 比较光合细菌生长量。

1.3 培养条件的优化 采用不同光照、温度、通气和盐份等培养条件, 以比较其生长量。

* 本项研究系本所所长择优基金资助项目; 农业部重点科研项目, 编号 85-91060104。易美菊同志作了大量辅助工作, 特此致谢。

修改稿于 1994 年 11 月 30 日收到。

1.4 生长量的比较 采用 722 型分光光度计测定培养物的 O. D 值。

1.5 保存实验 采用室温, 自然光照 40℃、黑暗两种不同保存条件, 通过生存试验进行比较。

2 结果与分析

2.1 不同培养基中光合细菌生长量的比较 在 PSB₃、PSB₄、PSB₆ 培养基中基本上不能生长; 在 PSB₂、PSB_D 培养基中培养 96h, 细菌生物量分别增长 4.2 和 4.7 倍; 在 PSB₁ 培养基中增长 6.2 倍; PSB₅ 为 18.8 倍, 以 PSB₅₁ 最佳, 增长 21.8 倍(图 1)。

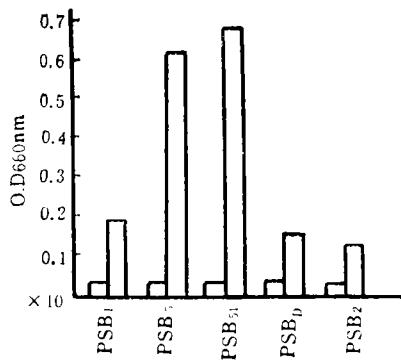


图 1 不同培养基中生长量的比较

Fig. 1 Comparison of abundance of photosynthetic bacteria in different media.

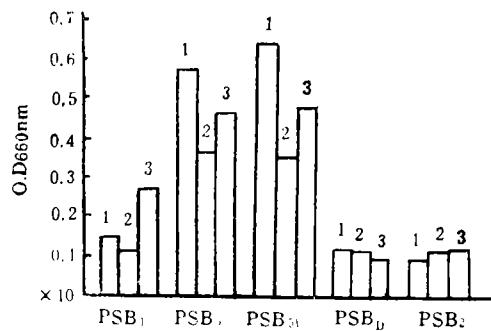


图 2 温度对光合细菌增长量的影响

Fig. 2 Effect of temperature on abundance of photosynthetic bacteria

1,2,3 分别代表 25℃, 30℃, 35—38℃

2.2 温度对光合细菌生长量的影响 在不同培养基中对温度的反应不尽相同。在 PSB₂、PSB_D 培养基中, 25℃、30℃ 和 35℃ 培养增长量无显著差别。在 PSB₁、PSB₃ 和 PSB₅₁ 培养基中, 25℃ 和 35℃ 培养者, 增长量高于 30℃。这很可能与混合培养中不同种类光合细菌最适温度不同有关(图 2)。

2.3 光照条件对光合细菌生长量的影响 光照与黑暗条件下生长量比较结果表明, 在白炽灯光照下, 光照强度为 1700—200Lx, 其增长量明显高于黑暗条件下的培养物(图 3)。采用 5 种培养基在白炽灯和日光灯光照下培养, 比较生长量的结果表明: 在多数情况下, 白炽灯光照者优于日光灯, 尤其在 PSB₅₁ 培养基中更为显著; 但在 PSB_D 培养基中日光灯光照者略高于白炽灯(图 4)。在 PSB₁、PSB₃、PSB₅₁ 和 PSB_D 四种培养基中, 光合细菌的生长量均以持续光照者为高, 间歇光照者较低, 尤以 PSB₅₁ 为最突出(图 5)。

2.4 静置和振荡培养对光合细菌生长的影响 图 6 所示静置在不通气条件下, 培养物生长量均优于振荡培养者(120r/min), 以 PSB₅₁ 为最突出, 两者生长量间相距约 6 倍。PSB₁ 则是在 40℃ 培养时差别较明显, 30℃ 时两种培养条件下的生长情况相近。

2.5 耐盐性试验 采用两种培养基进行了耐盐性试验。结果表明在 PSB₁ 培养基中加 0.5% NaCl 时生长最好。在 PSB₅₁ 培养基中则是含 1.5% NaCl 时生长量最高。当 NaCl 浓度达 3.0% 时, 在两种培养基中的生长量均显著下降(图 7)。分析其原因除了混合菌

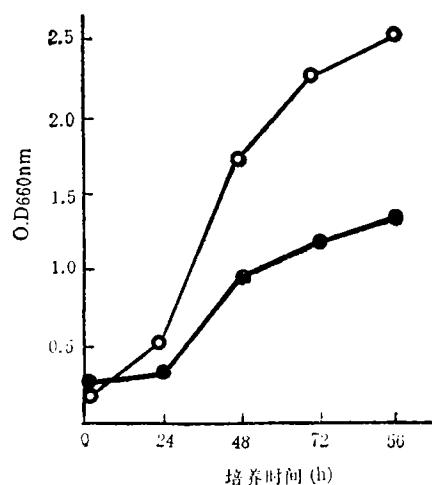


图 3 光照(○—○)与黑暗(●—●)条件下,光合细菌生长量的比较(好气, 培养基 PSB₅₁)

Fig. 3 Comparison of abundance of photosynthetic bacteria in illumination or dark conditions.

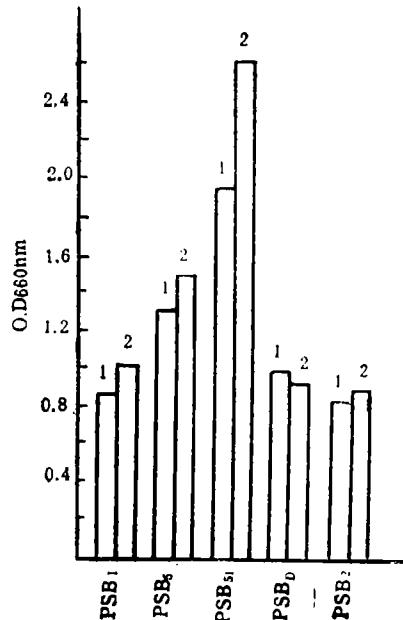


图 4 不同光质对光合细菌增长量的影响
(1 日光灯, 2 白炽灯)

Fig. 4 Effect of different light quality on growth of photosynthetic bacteria

剂中均为淡水湖泊中分离获得的菌株, 其生存的水环境盐份低, 一般菌株耐盐程度均在 3.0% 以下, 在两种培养基中生长量的差异还可能与其中的优势种、株不同, 营养条件不同, 以及某些有机物与 Na^+ 的络合有关。

2.6 接种量对光合细菌生长量的影响 从 2%、4%、10% 和 20% 比例量接种后, 观察培养物增长动态, 结果表明以 4% 接种量者增长速度最快, 培养 69h 后, 生长速度高于 20% 和 10% 接种量者; 20% 接种量者虽丰度仍居首位, 但其增长速率低于其它组(图 8)。

2.7 湖众微生物饲料添加剂保藏方法及效果 为适应大量生产中保存需要和远途运输的环境条件, 比较了室温和自然光照、黑暗和 40℃ 高温条件下保存的可能性。结果表明, 此菌剂在室温和自然光照下保存半年后用于养殖试验效果良好; 在黑暗、40℃ 条件下保存 15d, 大部份细菌仍能存活, 细菌量略有下降; 室温保存者细菌量略有增加(图 9)。特别是有的培养物在室温和自然光照下保存两年后再转种仍然生长良好; 有的则较差(图 10)。此外, 利用味精厂、淀粉厂和油脂厂废水培养湖光 1 号均可生长良好。但因每批废水有机质浓度变化大, 需作不同程度的稀释, 以致光合细菌生长稳定性较差。油脂废水培养光合细菌生长量较低, 而味精厂和淀粉厂废水培养物有特殊臭气。尽管如此, 利用有机废水生产光合细菌制剂仍是一条有利于降低成本和兼有处理废水效益的途径, 值得进一步研究。

根据上述研究结果, 提供了光合细菌生产性培养的主要技术参数: (1) 培养基质以

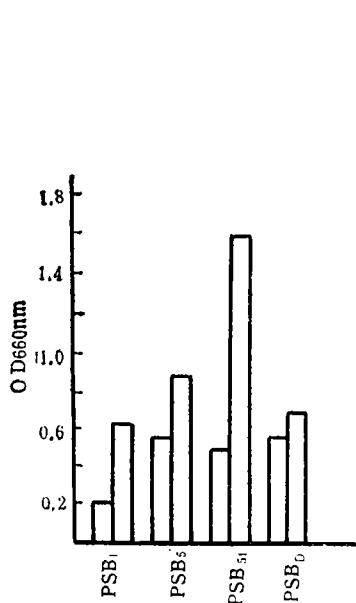


图5 持续光照与间歇光照下光合细菌生长量的比较 (48h)

Fig. 5 Increasing amount of photosynthetic bacteria under continuous or intermittent light
(低为间歇光照, 高为持续光照)

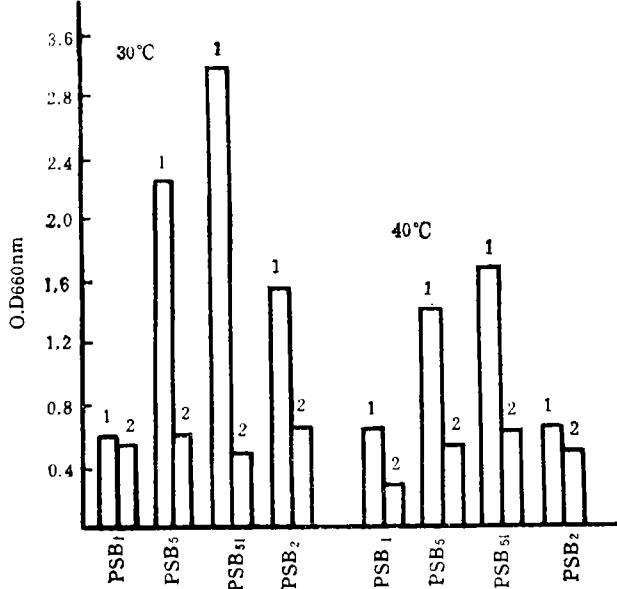


图6 静置和振荡培养条件下培养物生长量
(1 静置, 2 振荡)

Fig. 6 Abundance of photosynthetic bacteria under static or shaking conditions

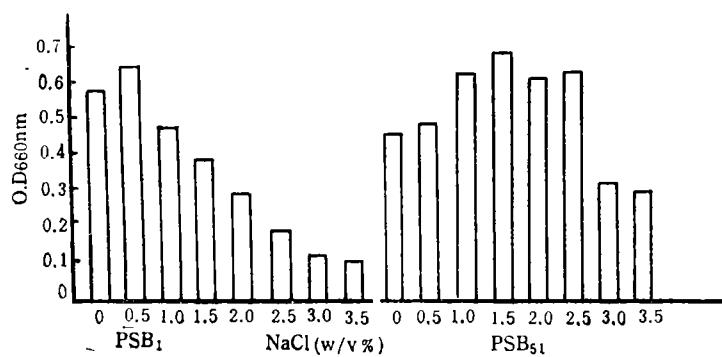


图7 湖光制剂耐盐性试验 (NaCl 浓度 0—3.5%)

Fig. 7 Tolerance of NaCl of Huguang additive

PSB₅₁ 为最佳, pH 6.8—7.2; (2) 白炽灯持续光照, 1700—2000Lx; (3) 静置、微嗜氧条件下生长最佳; (4) 培养温度适应范围为 25—40°C, 以 25—35°C 为宜; (5) 扩大培养接种量以 4% (V/V) 为宜。

2.8 湖光微生物饲料添加剂质量检测主要指标 根据上述主要技术参数培养的湖光微生物饲料添加剂应具有以下特点, 并达到一定的数量指标: (1) 湖光微生物饲料添加剂应为红-深红色, 细胞在其中均匀悬浮, 存放后的制剂可有红-深红色沉淀, 但摇动后可再

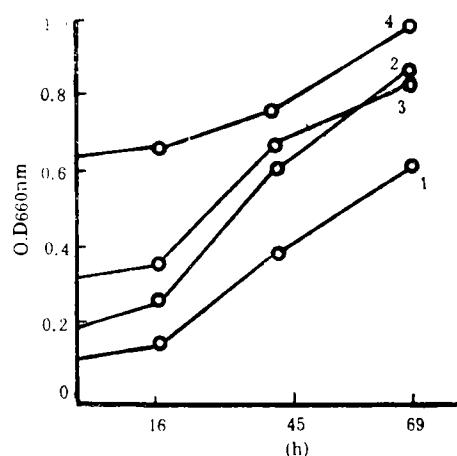


图 8 接种量与生长量的关系

Fig. 8 Effect of inoculating amount on growth

1,2,3,4 分别表示 2%, 4%, 10%, 20% 的接种量

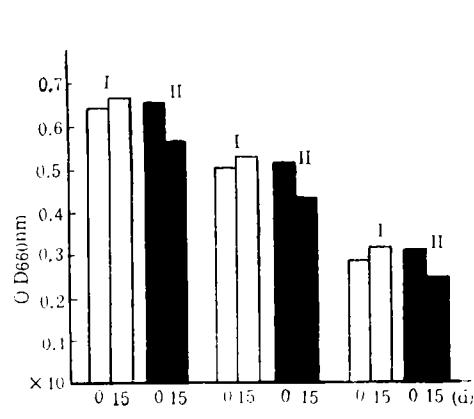


图 9 保存条件的比较

Fig. 9 Preservative conditions of Huguang additive.

I. 室温、自然光 15 d; Room temperature, sun light (15 days)
II. 黑暗、40℃, under dark (15 days)

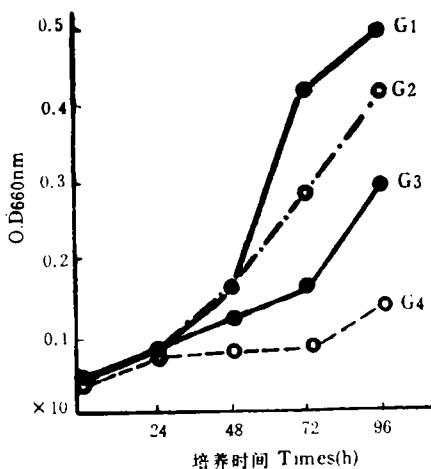


图 10 室温条件下保存 2 年的光合细菌培养物生长状况

Fig. 10 Growth of Photosynthetic bacteria preserved for 2 years under room temperature.

均匀悬浮；(2)培养物无真菌或其它杂菌大量生长，无自溶现象；(3) 每毫升细胞数量为 10^9 左右；(4) 在室温条件下，产品保存期可达半年。

湖光微生物饲料添加剂研究结果还表明，在黑暗条件下，40℃持续 15d 仍可存活，可进行长途运输，不要求特殊保存条件，能耐受 2% 以下盐分，故可在淡水和半咸水养殖饲料中使用，因此，它是一种比较理想的微生物饲料添加剂。

参 考 文 献

[1] 李勤生、谭德清、王业勤。DL. I 微生物饲料添加剂对养殖鱼类的促长作用。水生生物学报, 1990, 14(4):

368—371。

- [2] 胡贻智等。罗氏沼虾的养殖推广试验。见：洪湖水体生物生产力综合开发及湖泊生态环境优化研究。北京：海洋出版社，1991：113—116。
- [3] 俞吉安。应用光合细菌饵料添加剂养鱼的研究报告。淡水渔业，1991(3)：8。
- [4] 魏开金。光合细菌及其在水产养殖上的应用。淡水渔业，1991(2)：41—44。
- [5] 李勤生等。湖光微生物饲料添加剂研究 I. 菌株来源及鉴定。水生生物学报。1995，19(2)：164—170。

STUDY ON THE HUGUANG MICROBIAL ADDITIVE II. ESSENTIAL TECHNICAL PARAMETERS IN BATCH CULTURE OF PHOTOSYNTHETIC BACTERIA

Li Qinsheng

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

Abstract

Huguang microbial additive is comprised of strains of photosynthetic bacteria, including *Rhodopseudomonas* and *Rhodospirillum*. The essential technical parameters in batch culture, such as media, illumination, temperature, pH, aeration and inoculation ratio etc. were studied. In general, after incubation for 3—5 days under appropriate conditions, the culture became deep red in color and the cell number increased to about $10^9/\text{ml}$. When preserved at room temperature for 6 months, the microbial additive remained still effective; and when incubated at 40°C and in dark condition for 15 days most cells survive in culture.

A simple method for quality assay of the microbial additive is presented.

Key words Photosynthetic bacteria, *Rhodopseudomonas*, *Rhodospirillum*, Microbial additive