

混合培养对光合细菌生长量的影响^{*}

李勤生 卫翔^{**}

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

摘要 采用光合细菌不同菌株、光合细菌株与异养细菌株间混合培养, 比较它们与单株培养物生长量的差异。试验结果表明, 不同组合的混合培养物其生长量均不同程度高于单株培养物。光合细菌株间混合培养物生长量约高于对照 0.36—17.4%; 多数增长 11% 以上。光合细菌株与异养细菌株间混合培养效果更为显著, 增长量为单种培养的 1.34—5.6 倍。初步试验表明混合培养菌株间有互利或偏利关系。

关键词 光合细菌, 异养细菌, 混合培养

微生物的混合培养具有重要理论意义和应用价值。研究特定条件下的混合培养物不仅有助于阐明不同微生物间相互作用的基本方式、过程和机理, 同时还可获得适应人类生产或生活需要的实用性成果。已有研究表明, 混合培养可显著提高其生物量和生理代谢功能。如柄杆菌(*Caulobacter*)与蓝细菌(*Cyanobacteria*)混合培养时, 不仅可提高蓝细菌生物量, 而且促进色素合成和积累, 提高乙炔还原活力^[1]。又如在光合细菌与硫还原菌混合培养中可大幅度提高光合细菌利用乙酸盐产 H_2 的能力^[2]。当荚膜红假单胞菌(*Rhodopseudomonas capsulata*)与根瘤菌混合培养时, 不仅固氮能力加强, 还可使根瘤菌耐干旱, 保存时间延长, 在豆科植物上形成有效根瘤, 提高作物产量^[3]。此外, 微生物混合培养在食品、饮料, 环境治理以及金属回收等方面均有研究报道^[2, 4]。本研究目的在于通过混合培养以促进光合细菌生长, 提高其应用价值。

1 材料与方法

本研究包括: (1)光合细菌不同株间混合培养与单株培养物间生物量的比较; (2)光合细菌株与异养细菌株混合培养对其生物量的影响。

1.1 菌株来源 光合细菌株均系作者由我国不同淡、海水环境中分离获得; 异养细菌株包括芽孢杆菌(*Bacillus sp.* 8 011), 中华屈挠杆菌(*Flexibacter chinensis*) FCA 株、褐色溶解杆菌(*Lysobacter brunescens*) M-4 株均系本所保藏菌株。

1.2 培养条件 光合细菌均培养在 30℃、微好氧、1 700—2 000 lx 条件下, 培养基采用

^{*} 农业部“八五”重点科研项目, 编号 8591060104。

^{**} 武汉大学环境科学系实习生, 现在湖北省环境保护研究所工作。

1994-12-01收到; 1997-10-10修回

A、B 两种^[5-7]。异养细菌培养条件参照文献^[8,9]。

1.3 混合培养 采用 1:1 比例混合。生长量的比较则采用 722 型分光光度计检测培养物的 O.D 值 (660nm)。

1.4 混合菌株间相互作用关系的探讨,采用牛津杯法,以异养细菌培养物与琼脂混合倾注平皿,将光合细菌液加入牛津杯中,观察生长圈或抑制圈出现与否。

2 结果与讨论

2.1 光合细菌株间混合培养物生长量与单株培养物的比较:

试验结果表明,所有不同菌株间组合的混合培养物均不同程度优于单种培养物,最高增长量可达 17.4%,最低者亦略高于对照。如将每一菌株与各菌株混合培养物增长量其平均值比较,混合培养物较单株培养物高出 5.6—15.7%。多数组合增长 11% 以上(表 1)。

比较在 A 和 B 两种不同培养基中混合培养物生长量,结果表明两者具有相似的表现。但 B 培养基中单株培养物生长量均高于 A,在混合培养条件下,生长量亦有相当的增长,最低增长量按各组合平均值计高出对照 3.5%,最高可达 19.1%(表 2)。

2.2 光合细菌株与异养细菌株间混合培养生长量的比较

光合细菌株 H₃B、OR、Y 和 D-1 等菌株与异养细菌 8011、FCA 和 M-4 等菌株混合培养时,其生长量明显高于光合细菌单株培养物。D-1 与异养细菌混合培养时,其增长量高于对照 2—4.6 倍; OR 株则为一生长极为缓慢的光合细菌株,当添加异养细菌混合培养后,其生长量为单株培养物的 3.8 倍。

2.3 混合和单株培养物生长动态比较

图 1 所示为 H₃B 菌株单和混合培养物的生长动态。各培养物起始 O.D 值是相近似的,但随着时间的增长,它们之间的差别渐增。其中以 H₃B 与 M-4 菌株的混合培养物生长最

表1 光合细菌单株和混合培养物生长量的比较(3日净增值O.D 660nm, A培养基)

Tab.1 Comparison of abundance of photosynthetic bacteria between axenic cultures and co-cultures
(3 days net increasing amount, OD 660nm, A medium)

菌株号 No. strain	DL I-1	DL I-2	DL I-3	DL I-4	DL I-5	DL I-6	DL I-7	DL II-1	DL II-2	混合培养物 平均净增值	高于单株 生长量%
DL I-1	0.303*	0.334	0.336	0.323	0.321	0.320	0.320	0.332	0.315	0.325	7.3
DL I-2	0.354	0.295*	0.395	0.330	0.334	0.340	0.325	0.357	0.341	0.347	11.8
DL I-3	0.343	0.332	0.312*	0.353	0.339	0.340	0.323	0.334	0.325	0.336	7.7
DL I-4	0.324	0.322	0.351	0.284*	0.303	0.310	0.301	0.295	0.312	0.315	11.1
DL I-5	0.305	0.307	0.331	0.329	0.276*	0.283	0.288	0.277	0.301	0.314	11.4
DL I-6	0.308	0.318	0.325	0.319	0.310	0.251*	0.269	0.295	0.294	0.305	12.2
DL I-7	0.305	0.311	0.334	0.328	0.295	0.283	0.245*	0.290	0.301	0.318	13.0
DL II-1	0.314	0.318	0.345	0.321	0.310	0.298	0.301	0.267*	0.289	0.312	11.7
DL II-2	0.308	0.311	0.344	0.312	0.316	0.287	0.300	0.279	0.198*	0.307	15.5
混合培养物 ^a 平均净增值	0.320	0.319	0.345	0.327	0.316	0.308	0.303	0.307	0.310		
高于单株 ^b 增长量%	5.6	8.1	11.1	11.5	11.4	12.3	12.4	11.5	15.7		

* 单株培养物(Axenic culture) a. Average net increasing amount in co-culture.
b. Increasing percent of co-culture/axenic culture.

表2 不同培养基中混合培养物生长量的比较(3日净增值O.D 660nm)

Tab.2 Comparison of growth amount of photosynthetic bacterial co-cultures in different media.
(3 days net increasing amount, O. D. 660nm)

菌株号 No. strain 培养基 Medium	DL. I-1		DL. I-2		DL. I-3		DL. I-4	
	A	B	A	B	A	B	A	B
DL. I-1	0.303*	0.364*	0.344	0.400	0.340	0.392	0.337	0.391
DL. I-2	0.344	0.400	0.295*	0.350*	0.364	0.393	0.326	0.384
DL. I-3	0.340	0.392	0.364	0.388	0.312*	0.356*	0.352	0.391
DL. I-4	0.324	0.386	0.326	0.384	0.352	0.391	0.284*	0.332*
混合培养物平均净增值*	0.336	0.393	0.345	0.391	0.352	0.392	0.338	0.387
混合培养物 ^b	10.9	7.9	16.8	11.6	3.5	10.1	19.1	19.1

* 为单株培养物 (Axenic culture) A. Averege net increasing amount in co-culture.
B. Increasing precent of co-culture/axenic culture.

佳,其次是 H₃B 与 FCA 和 H₃B 与 8011,对照者 H₃B 单种培养物最低。

Y 菌株与 FCA 或 8011 菌株混合培养,OR 与 8011 或 FCA 菌株的混合培养物亦呈类似的趋势,只是 OR 菌株显示出更大的差别(图 1-3)。另一由淡水生态环境中分离获得的 D-1 菌株与其它异养细菌株混合培养的结果也是相似的。看来这些菌株对光合细菌的生长繁殖具有促进作用。

由以上结果看来,混合培养在本实验组合中均表现了正面效应,所有不同菌株组合的混合培养物均较单株培养物增长量高。值得注意的是光合细菌与异养细菌株间的混合培养其增长幅度显著超出光合细菌株间的组合。此现象与它们之间生物学特性差异大,彼此间生理功能互补性更强有关。

2.4 光合细菌与异养细菌株间的相互关系

在所有实验组合中尚未发现不利于光合细菌生长的现象。但在混合培养物中两菌株间的关系如何? 作者采用牛津杯方法作了初步观察。结果表明,D-1 和 OR 菌株周围 8011 和 FCA 几乎不生长,它们与光合细菌株间似为偏利的关系。M-4 菌株在所有光合细菌株周围均可形成生长圈,FCA 和 8011 菌株亦可在 H₃和 Y 菌株周围生长,表明它们与光合细菌间有互利互惠关系。

混合培养过程中,菌株间的相互作用方式和效应无疑十分复杂的。它们不仅表现在生物量的增减上,还必然反映在它们对基质

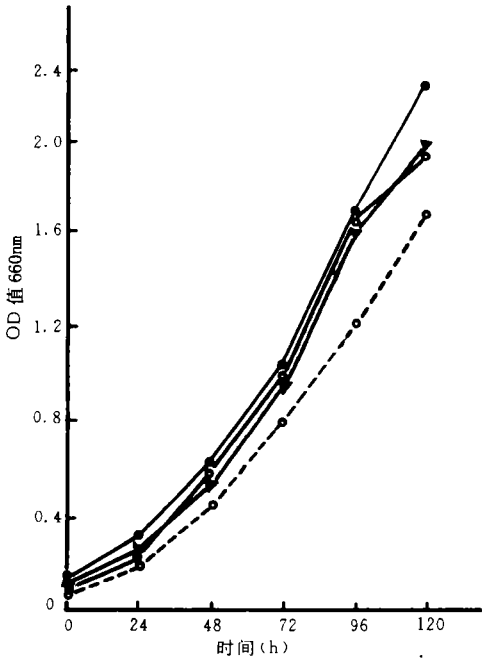


图1 H₃B菌株单种和混合培养生长动态

Fig.1 Growth of H₃B strain in axenic and co-cultures

●—● H₃B+M-4 ▲—▲ H₃B+FCA
○—○ H₃B+8011 ○---○ H₃B

表3 混合培养对光合细菌株生长量的影响(5日净增值O.D660nm)

Tab.3 Growth of photosynthetic bacteria in co-cultures (5 days net increasing amount O. D 660nm)

光合细菌株	单株光合细菌	添加菌株 PSB/HB* co-culture		
PSB strain	PSB axenic	8011	FCA	M-4
H ₂ B	1.587	1.839	1.855	2.130
OR	0.289	0.990	1.110	
Y	1.467	1.852	1.971	
D-1	0.262	1.384	1.476	
	0.495			1.474

* 异养细菌 HB-Heterotrophic bacteria

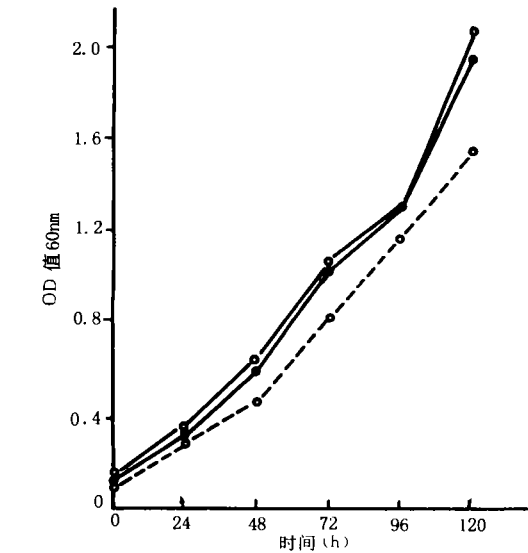


图2 Y菌株及其混合培养生长动态比较

Fig.2 Growth of Y strain in axenic and co-cultures

○—○ Y+FCA ●—● Y+8011 ○- - -○ Y

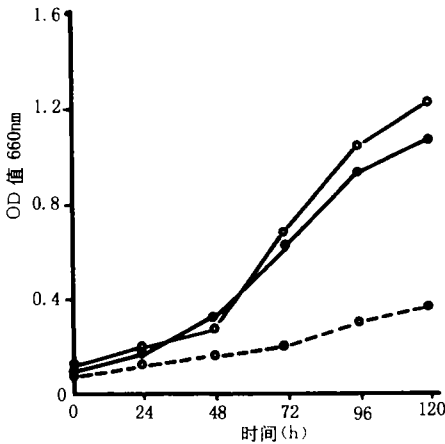


图3 OR菌株及其混合培养的生长动态

Fig.3 Growth of OR strain in axenic and co-culture

○—○ OR+FCA ●—● OR+8011
○- - -○ OR

表4 光合细菌对异养细菌株生长的影响

Tab.4 Effect of photosynthetic bacteria on growth of heterotrophic bacteria

异养细菌	光 合 细 菌			
	H ₂ B	OR	Y	D-1
M-4	++	++	++	+
FCA	+	±	+	-
8011	++	-	++	±

注: ++生长良好, +生长, ±无明显生长, -未见生长

的利用率、代谢途径和活力强度、中间和末端产物的性质和积累,甚至涉及在此过程中的各种调控机理和遗传特性。深入研究和阐明这些问题是十分有意义的。

参 考 文 献

[1] 李勤生、路景舒、利群等,柄杆菌对固氮蓝藻生物量及色素的影响.生态学报,1989,9(4):366—371

- [2] Warthmann R, Cypionka H, Pfennig N., Photoproduction of H_2 from acetate by syntrophic cocultures of green sulfur bacteria and sulfur-reducing bacteria. *Arch. Microbiol.* 1992, **157**(4):343—348
- [3] 吴永强(译), 光养细菌混合培养物的固氮作用. 应用微生物, 1982, **3**: 31—33
- [4] Bull A. T, Slater J H (eds). *Microbial interactions and communities*. (London): Academic Press Inc. 1982
- [5] 李勤生、赵卫、李军等. 湖光微生物饲料添加剂研究 I, 菌株来源和鉴定, 水生生物学报, 1995, **19**(2): 164—170
- [6] 李勤生, 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, 水生生物学报, 1995, **19**(4): 344—349
- [7] 李勤生、卫翔、王若雪, 光合细菌 H_2 株的分离及其生物学特性研究, 水生生物学报, 1997, **21**(4): 293—298.
- [8] 李勤生、黎尚豪, 溶藻细菌 M-4. 微生物学通报, 1983, **10**(3): 112—116
- [9] 李勤生、黎尚豪、王大相, 中华屈挠杆菌的分离和鉴定, 微生物学报, 1984, **24**(1): 7—13

COMPARISON OF GROWTH OF PHOTOSYNTHETIC BACTERIA IN AXENIC CULTURES AND IN Co-CULTURES

Li Qinsheng and Wei Xiang

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

Abstract The growth of photosynthetic bacteria (PSB) in axenic and co-cultures was studied. The abundance of PSB co-cultured with PSB strains or with heterotrophic bacteria strains was higher than that in axenic culture.

The study of the interaction between PSB and heterotrophic bacteria strains revealed the relationship of synergism and / or commensalism.

Key words Photosynthetic bacteria, Heterotrophic bacteria, Co-cultures