60-62

太湖中4种细菌的分离、
鉴定及生长曲线的测定

Q939.108

周子元¹ 罗 屹² 马文漪² 蔡后建¹

(1:中国科学院南京地理与湖泊研究所,南京 210008; 2:南京大学环境科学与工程系,南京 210093)

提 要 对4种可能和太湖微囊藻生长代谢有关的细菌进行了分离,经鉴定,其中3株(X、Y₂、D)为假单胞菌(*Pseudomonas* spp.),1株(H)为芽孢杆菌(*Bacillus* sp.).在相同培养条件下,X、Y₂的迟缓期小于0.5h,30h左右进入稳定期;D的迟缓期为1h,20h左右进入稳定期;H的迟缓期达10h,60h进入稳定期.

关键词 细菌,微囊藻,生长曲线,太湖
分类号 Q939.101

细菌作为水体生态系统中重要的组成部分,在以往的太湖水体生态系统研究中一直未进行深入的研究,仅限于总菌群数等方面.近年来,利用微生物防治藻类危害的方法渐渐得到重视,特别是细菌对藻类生长影响的机理研究,已逐渐被人们所关注^[1,2].根据多年对太湖的生物监测及室内微囊藻培养的结果发现,在湖泊水体中,微囊藻群体上常伴生着细菌,而且在微囊藻暴发期尤为明显.Mauricette^[3]报道过鱼腥藻和动胶菌之间存在相互协同作用.Maria Grilli Caiola等^[4]则发现铜绿微囊藻被蛭弧形的细菌侵入而溶解,但细菌对微囊藻的生长、代谢究竟起什么作用尚不清楚.本研究的目的是将太湖中可能对微囊藻生长代谢有影响的细菌分离、鉴定,并测定其生长曲线,为进一步深入探讨藻菌关系打下基础.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌种来源 太湖水中的悬浮微囊藻水样,经镜检,微囊藻群体外胶鞘上黏附着大量杆菌,以无菌水反复多次冲洗后接种于营养肉汤培养基中,35℃黑暗振荡培养4d,涂布分离,划线纯化.

1.1.2 培养基 营养肉汤培养基^[5]、营养琼脂固体培养基^[5]、休和利夫森氏培养基^[5]、合成培养基:C₆H₁₂O₆ 6g, Na₂HPO₄ 1g, NaH₂PO₄ 1g, MgSO₄·7H₂O 0.2g, NaCl 5g, NH₄Cl 1g,蒸馏水 1000mL, 0.05%酵母膏, pH 7.4, 112℃灭菌 20min.

1.2 方法

1.2.1 鉴定方法 形态观察、革兰氏染色^[5]、氧化酶反应^[6]、过氧化氢酶反应^[6]、芽孢染色^[5]、葡萄糖氧化发酵试验^[6]、运动性观察^[5]、鞭毛染色^[5].

1.2.2 生长曲线的测定 250mL三角瓶内装100mL合成培养基,接种量10%,30℃振荡培

· 国家自然科学基金(39600025)和中国科学院“九五”重点项目(KZ952-J1-212)资助项目.
收稿日期:1997-11-23;收到修改稿日期:1997-12-30. 周子元,男,1973年生,研究实习生.

养(转速 100 转/min),定时取样,用 7230 型分光光度计于 500nm 处测吸光值。

2 结果

2.1 菌株的鉴定

根据 X、D、Y₂、H 菌的形态特征及生理生化特性,参照《伯杰细菌鉴定手册》(第八版),初步鉴定,X、Y₂、D 菌为假单胞菌属,H 菌为芽孢杆菌属。

2.2 X、Y₂、D、H 菌的生长曲线

从图 1 可见,X 菌的迟缓期很短,小于 0.5h,约 30h 时进入稳定期。Y₂ 菌和 X 菌相似,迟缓期短,小于 0.5h,约 30h 时到达稳定期。D 菌的迟缓期约 1h,18h 左右进入稳定期。H 菌的迟缓期较前 3 株菌要长很多,达 10h,60h 左右进入稳定期。

图 1 X、Y₂、D、H 的生长曲线

Fig. 1 Growth curve of X, Y₂, D, H

3 讨论

本试验分离出的细菌分属假单胞菌属(*Pseudomonas*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*),这两个属都曾被报道有溶藻作用^[7,8,9]。采集菌种前,在显微镜下看见的微囊藻群体外胶鞘上黏附的细菌的形态,和 Maria Grilli Caiola 等^[4]关于蛭弧形细菌溶解铜绿微囊藻的报道中刊登的图片非常相似。根据多年观测,每年夏季,太湖微囊藻暴发的同时,大批微囊藻迅速死亡,死藻周围聚集着大量细菌,明显超过活藻周围的细菌存量。由此推测,这些细菌的大量产生和微囊藻的死亡分解有关,但究竟其过程如何进行,是否还有其它作用,尚待进一步研究。

在试验中发现,D 菌在营养肉汤培养基中吸光值可达 1.959,而在合成培养基中只有 0.203 就进入稳定期。这可能是由于 D 菌对有机氮的利用较无机氮为好。X、Y₂、D 菌在没有酵母膏的合成培养基中就能生长,而 H 菌需要生长因子,必须在加入 0.05% 酵母膏的合成培养

基中才能生长,且迟缓期比前三株菌长得多,整个生长周期也长得多.是否是微囊藻给 H 菌提供了其必须的生长因子,在今后的工作中,将进一步深入研究.

致谢 陈宇炜同志在实验中给予了热情帮助,南京大学生物系的刘志礼教授和环科系的孔繁翔副教授给予了重要指导,特此致谢.

参 考 文 献

- 1 周万平等. 湖泊蓝藻湖陵与环境关系的分析. 河海大学学报(海洋湖泊专辑), 1994, 22: 120—124
- 2 Janason M. Uptake, exchange and excretion of orthophosphate in phosphastarved *Scenedesmus quadricauda* and *Pseudomonas* K7. *Limnol Oceanogr*, 1993, 38(6): 1162—1178
- 3 Mauricette F, et al. Amino acid uptake by a natural population of *Oscillatoria rupestris* in relation to uptake by bacterioplankton. *Arch Hydrobiol*, 1988, 113(3): 345—358
- 4 Maria Grilli Caiola F, et al. Bdellovibrio-like Bacteria in *Microcystis aeruginosa*. *Arch Hydrobiol/Algological Studies*, 1991, 64: 369—376
- 5 祖若夫等. 微生物学实验教程. 上海: 复旦大学出版社, 1993
- 6 王大能. 细菌分类基础. 北京: 科学出版社, 1977
- 7 Dakhama A, et al. Stimulatory and unihitory suffects of *Pseudomonas* on the growth of algae. *Aquat Sci*, 1989, 17(4): 46—51
- 8 Dakhama A, et al. Isolation and identification of antialgal substances produce by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Appl Phycol*, 1993, 5: 297—306
- 9 Reim R L, et al. The characterization of a *Bacillus* capable of blue-green bactericidal activity. *Can J Microbiol*, 1974, 20: 981—986

Identification and Determination of Growth Curve of Four Bacterium Isolated from Taihu Lake

Zhou Ziyuan¹ Luo Yu² Ma Wenyi² Cai Houjian¹

(1: Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008 ;

2: Department of Environmental Science and Engineering, Nanjing University, Nanjing 210093)

Abstract

Four bacterium isolated from *Microcystis* surrounding in Taihu Lake were identified. Three of them (X, Y2, D) are *Pseudomonas* spp., the other one (H) is *Bacillus* sp. Under the same culture condition, their growth curves were determined as follows: the lag phase of X, Y2, D and H lasts respectively less than 0.5h, less than 0.5h, 1h and 10h; the stationary phase starts seperately at about 30h, 30h, 20h, 60h.

Key words Bacteria, *Microcystis*, growth curve, Taihu Lake