

# 培养基中几种重要营养元素对 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 及 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 生长的影响

高良春 张巨源 王 莉 陈雯莉

华中农业大学农业微生物学国家重点实验室, 武汉 430070

**摘要** 配制  $\text{KNO}_3$ 、 $\text{KHCO}_3$ 、 $\text{NaHCO}_3$ 、 $\text{FeNa}_2\text{-EDTA}$  及  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  营养盐培养液,并按一定浓度添加至液体或固体培养基中,获得含有不同营养元素、不同浓度的液体及固体培养基,检测无机氮( $\text{NO}_3^-$ )、无机碳( $\text{HCO}_3^-$ )、Fe 及  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  对集胞蓝细菌 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 和鱼腥蓝细菌 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 细胞生长的影响。结果显示,集胞蓝细菌 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 在 10 mmol/L 硝酸盐生长较好,鱼腥蓝细菌 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 在 2 mmol/L 硝酸盐生长较好。不同浓度  $\text{KHCO}_3$  及  $\text{NaHCO}_3$  都会对蓝细菌的生长产生影响,可能是因为盐离子发挥了主要作用。此外,2 种蓝细菌在 10 mmol/L  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  中生长较好,不同浓度的铁盐对蓝细菌的生长产生较大影响,在 10  $\mu\text{mol/L}$  铁盐中生长最佳。

**关键词** 蓝细菌;培养基;营养元素;鱼腥蓝细菌;集胞蓝细菌

**中图分类号** Q 93-335 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2016)06-0017-08

蓝细菌(Cyanobacteria)又名蓝藻(blue-green algae),是一大类能够进行产氧性光合作用的原核微生物,包括 2 种类型:丝状体和单细胞<sup>[1-2]</sup>。目前,实验室常用的蓝细菌为单细胞的集胞蓝细菌 PCC 6803 和丝状鱼腥蓝细菌 PCC 7120,是常用的模式生物,它们的基因组测序都已完成<sup>[2-3]</sup>;PCC 7120 是一种丝状鱼腥蓝细菌,具有固氮功能<sup>[4-5]</sup>。随着对蓝细菌的研究越来越深入,培养基中各营养元素的浓度对蓝细菌生长的作用显得越来越重要。

微生物的生长需要一定的营养物质和环境条件,只有这两方面都满足时才会正常生长。从微生物生长过程中所需要的营养元素量的不同,可以大致将其分为大量营养元素和微量元素两大类。大量营养元素是细菌生长的主要物质基础,它参与细菌细胞壁、细胞膜的形成及细胞内蛋白的合成,也是遗传物质的合成原料,对细菌生长具有重要意义<sup>[6-7]</sup>。微量元素在细胞中虽然含量少,但亦发挥重要功能,如镁元素,它既能影响光合作用又可以在呼吸过程中活化一些酶<sup>[8]</sup>。一般来说,适于特定生物生长的培养基中的营养元素的比例、浓度都有具体要求,任

何不合适的改变都会影响细胞生长。培养蓝细菌的培养基有多种,其中 BG11 是最为常用的之一,标准 BG11 培养基的主要成分包含  $\text{NaNO}_3$  (1.5 g/L)、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (0.02 g/L)、 $\text{MgSO}_4$ 、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (0.04 g/L)、柠檬酸铁 (0.06 g/L)、 $\text{H}_3\text{BO}_3$  (2.86 g/L)、 $\text{CaCl}_2$  (0.036 g/L)、 $\text{MnCl}_2$  (1.81 g/L) 等。其中, $\text{NaNO}_3$  加入的浓度为 17 mmol/L,主要是为了补充氮源; $\text{Na}_2\text{CO}_3$  的使用浓度为 0.19 mmol/L,主要是提供无机碳源。其他成分添加量相对来说不是很多,但它们起到了很关键的作用。如铁是微生物生长所必需的微量元素,参与细胞内载体蛋白运输<sup>[9]</sup>和蓝细菌的产氧性光合作用<sup>[8-9]</sup>, $\text{K}_2\text{HPO}_4$  主要作为缓冲物质,而镁离子、钙离子、锰离子等对蓝藻生长起到了很重要的作用<sup>[9-11]</sup>。尽管多种蓝细菌在 BG11 中都能生长,但目前并不清楚这些蓝细菌在该培养基中的生长是否仍存在一些限制性因子(例如,可能对特定蓝细菌而言,BG11 中某些营养元素的量过多或过少)。本研究改变了 BG11 培养基中几种营养元素的浓度,并检测其对集胞蓝细菌 PCC 6803 和鱼腥蓝细菌 PCC 7120 生长造成的影响,以期寻找到

收稿日期: 2015-12-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(31570048);中央高校基本科研业务费专项(2014PY003)

高良春,硕士研究生,研究方向:蓝细菌分子生物学. E-mail: 601013856@qq.com

通信作者: 陈雯莉,博士,教授. 研究方向:环境微生物学. E-mail: wlchen@mail.hzau.edu.cn

更为适合特定蓝细菌生长的培养基,从而更好地满足科研及生产需求。

## 1 材料与方法

### 1.1 蓝细菌野生型菌株及培养条件

蓝细菌 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 及 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 菌株为野生型,由笔者所在实验室保存,接种于 BG11 液体培养基,在 30 ℃ 恒温光照摇床、150 r/min、光强 50 ~ 100

$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  的条件下培养至对数期。

### 1.2 不同浓度的营养盐及其培养基的配置

为了探究无机氮营养( $\text{NO}_3^-$ )、无机碳营养( $\text{HCO}_3^-$ )、Fe 营养以及  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  对细胞生长的影响,配制了  $\text{KNO}_3$ 、 $\text{KHCO}_3$ 、 $\text{NaHCO}_3$ 、 $\text{FeNa}_2\text{-EDTA}$ 、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  几种营养盐培养液,并按一定浓度添加至液体或固体培养基中(表 1)。最终获得含有不同营养素、不同浓度的液体及固体培养基。此外,还配制了不同浓度的 BG11 培养基,分别为  $0.3\times$ 、 $0.5\times$ 、

表 1 本研究中用到的各种营养盐

Table 1 Nutrients used in this study

营养组分 Nutrient component	贮藏液浓度/(mol/L) Concentration in storage liquid	培养基中浓度/( $\mu\text{mol/L}$ ) Concentration in medium
硝酸钾 $\text{KNO}_3$	2	0.2 000, 5 000, 10 000, 17 000, 30 000
碳酸氢钾 $\text{KHCO}_3$	1	200, 2 000, 10 000, 30 000, 50 000
碳酸氢钠 $\text{NaHCO}_3$	1	200, 2000, 10 000, 30 000, 50 000
硫代硫酸钠 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	2	2 000, 5 000, 10 000, 20 000
乙二胺四乙酸二钠铁 $\text{FeNa}_2\text{-EDTA}$	0.1	2.5, 10, 15, 20, 30, 50

$0.8\times$ 、 $1.0\times$  BG11。

### 1.3 生长曲线的测定

在 30 ℃ 恒温光照摇床,150 r/min、光强 50 ~ 100  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$  的条件下培养活化菌种。活化好的蓝细菌按照 10% 的接种量将 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 及 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 接种到不同浓度的培养基中使其  $D_{730\text{ nm}}=0.1$ 。PCC 6803 在分别培养 12、24、36、48、60、72 h 时,PCC 7120 分别培养 12、24、36、48、72、96 h 时使用可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)测量细胞浓度(730 nm 吸光度)。每次取样前需要测定水分蒸发量,补足蒸发掉的水后再取样测量,进行 3 次生物学重复。

### 1.4 固体平板实验

使用可见分光光度计测量 *Anabaena* sp. strain PCC 7120、*Synechocystis* sp. strain PCC 6803 菌液的  $D$  值,并用无抗培养基将菌液浓度调至  $D_{730\text{ nm}}=0.5$ ,将 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803、*Anabaena* sp. strain PCC 7120 2 个菌株分别进行 4 倍及 2 倍稀释,每种菌包括 3 个稀释度。菌珠 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 的稀释度为 0.5、0.125( $0.5/4$ )、0.031 25( $0.5/4^2$ )、0.007 812 5( $0.5/4^3$ ),菌株 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 的稀释梯度为 0.5、0.25( $0.5/2$ )、0.125 ( $0.5/2^2$ )、0.062 5( $0.5/2^3$ )。在含有不同浓度的营养元素固体培养基上点

样,每次打点菌液量为 5  $\mu\text{L}$ 。3 次生物学重复。

## 2 结果与分析

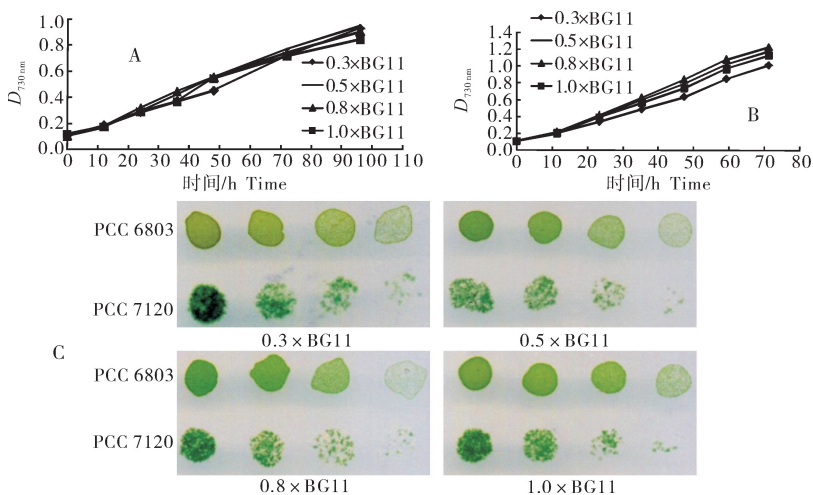
### 2.1 不同浓度的 BG11 培养基对蓝细菌生长的影响

为确定不同浓度的 BG11 对 *Anabaena* sp. strain PCC 7120、*Synechocystis* sp. strain PCC 6803 野生型菌株生长的影响,配制了 4 个不同浓度的 BG11 培养基。将已经活化好的 2 种野生型蓝细菌分别接种到相应浓度的 BG11 液体培养基中,测定生长曲线(图 1A 和图 1B)。同时,将  $D_{730\text{ nm}}=0.5$  的蓝细菌进行系列稀释并打点到固体培养基上,置于光照培养箱中培养 5~7 d(图 1C)。

结果显示,不同浓度的 BG11 培养基中 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 的生长状况总体差异不是很明显,*Synechocystis* sp. strain PCC 6803 在  $0.8\times$  及  $1.0\times$  BG11 培养基中生长都比  $0.5\times$  和  $0.3\times$  BG11 的培养基中稍好(图 1C)。当用较低浓度的 BG11 培养基,即培养基中的营养元素含量偏低时,蓝细菌的生长都会受到影响,其中 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 受到的影响尤为显著。鉴于以上结果,接下来的实验所用的 BG11 培养基都为  $1.0\times$  BG11。

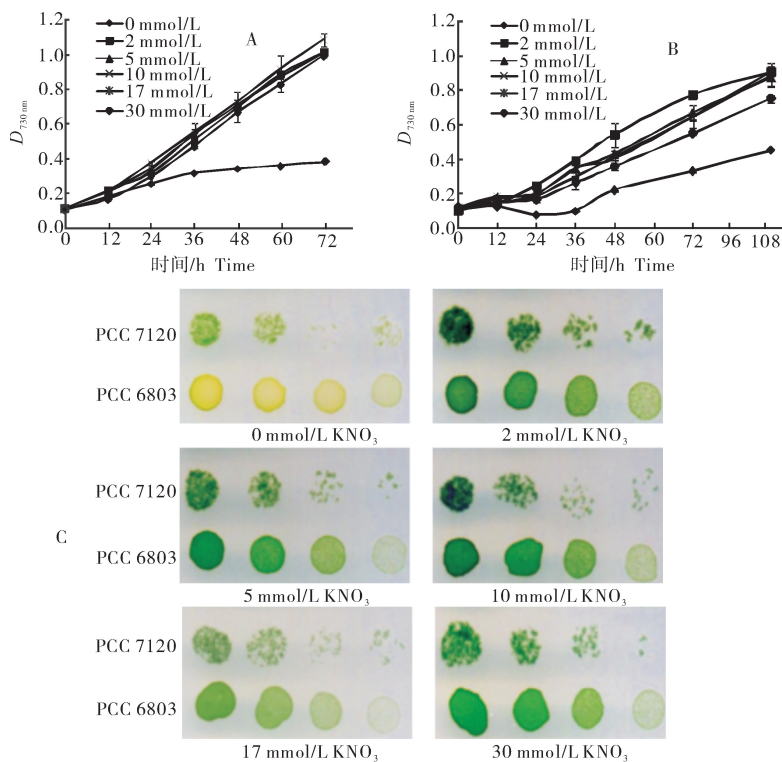
### 2.2 不同浓度的营养盐对蓝细菌生长的影响

1)不同浓度的硝酸盐( $\text{NO}_3^-$ )对蓝细菌生长的影响。为了研究  $\text{NO}_3^-$  对蓝细菌生长的影响,配制



A.不同浓度的 BG11 对 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 生长速率的影响；B.不同浓度的 BG11 对 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 生长速率的影响；C.  $D_{730\text{ nm}}=0.5$  的菌被一系列稀释并打点到固体培养基。A.Effects of different concentrations of BG11 on the growth rate of *Anabaena* sp. strain PCC 7120; B.Effects of different concentrations of BG11 on the growth rate of *Synechocystis* sp. strain PCC 6803; C.Cells suspended at  $D_{730\text{ nm}}=0.5$  were serially diluted and spotted on solid medium.

图 1 蓝细菌 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 及 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 在不同浓度 BG11 液体及固体培养基中的生长  
Fig.1 Growth of *Anabaena* sp. strain PCC 7120 and *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 in different concentrations of BG11 liquid and solid medium



A.不同浓度的  $\text{KNO}_3$  对 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 生长速率的影响；B.不同浓度的  $\text{KNO}_3$  对 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 生长速率的影响；C.  $D_{730\text{ nm}}=0.5$  的菌被一系列稀释并打点到固体培养基。A.Effects of different concentrations of  $\text{KNO}_3$  on the growth rate of *Anabaena* sp. strain PCC 7120; B.Effects of different concentrations of  $\text{KNO}_3$  on the growth rate of *Synechocystis* sp. strain PCC 6803; C.Cells suspended at  $D_{730\text{ nm}}=0.5$  were serially diluted and spotted on solid medium.

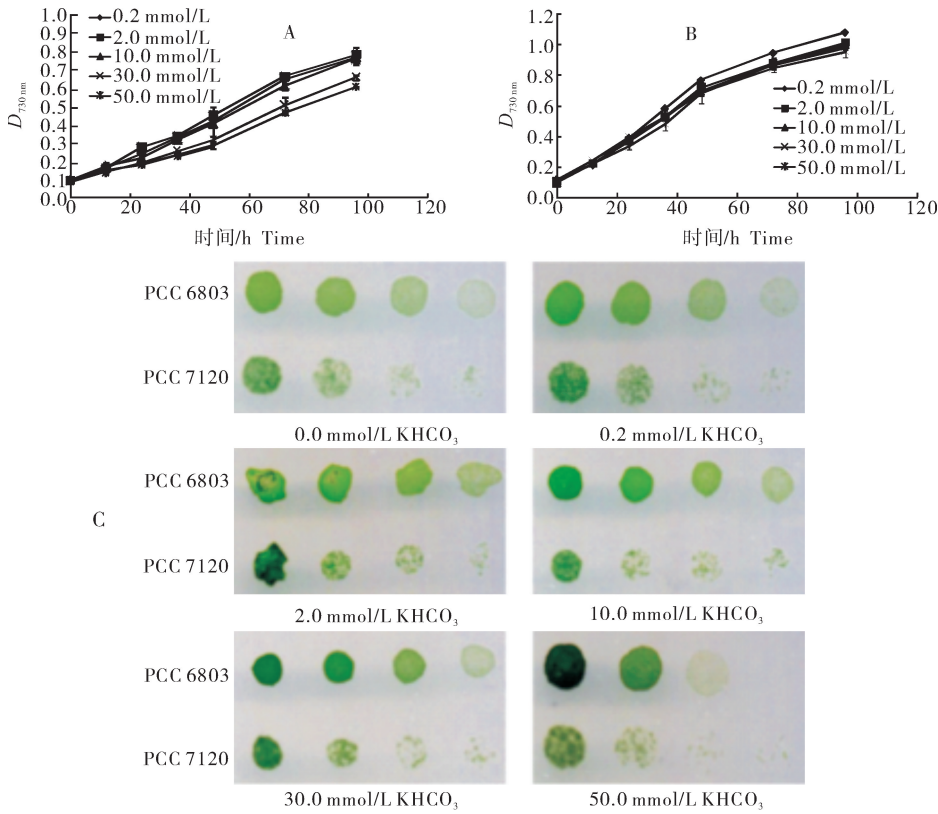
图 2 蓝细菌 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 及 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 在不同浓度  $\text{KNO}_3$  液体及固体培养基中的生长  
Fig.2 Growth of *Anabaena* sp. strain PCC 7120 and *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 in different concentrations of  $\text{KNO}_3$  liquid and solid medium

了 BG110 缺氮培养基并将 2 mol/L  $\text{KNO}_3$  直接加入到缺氮培养基中形成了含有 0、2 000、5 000、10 000、17 000、30 000  $\mu\text{mol/L}$  的  $\text{KNO}_3$  的液体及固体培养基。将活化好的蓝细菌按照 10% 的接种量接种到上述液体培养基中使其  $D_{730\text{ nm}}=0.1$ ，培养 0、12、24、36、48、60、72、96 h 分别测定  $D$  值(图 2A 和图 2B)。同时，将  $D_{730\text{ nm}}=0.5$  的蓝细菌进行系列稀释并打点到固体培养基上，置于光照培养箱中培养 5~7 d(图 2C)。

结果显示，在缺氮条件下，集胞蓝细菌 PCC 6803 无法生长，鱼腥蓝细菌 PCC 7120 的生长受到影响。随着营养物质  $\text{KNO}_3$  的加入，2 种蓝细菌的生长明显变好，但加入浓度较高的营养物质时受到

了一定的影响。总体来看，加入 2 000  $\mu\text{mol/L}$   $\text{KNO}_3$  时，鱼腥蓝细菌 PCC 7120 恢复生长。当加入 2 000、5 000、10 000  $\mu\text{mol/L}$   $\text{KNO}_3$  时，集胞蓝细菌 PCC 6803 恢复生长，生长差异不明显。

2)不同浓度的无机碳营养( $\text{HCO}_3^-$ )对蓝细菌生长的影响。为了研究无机碳营养( $\text{HCO}_3^-$ )对蓝细菌生长的影响，配制了不同浓度  $\text{KHCO}_3$  的液体及固体培养基。将活化好的蓝细菌按照 10% 的接种量接种到上述液体培养基中使其  $D_{730\text{ nm}}=0.1$ ，培养 0、12、24、36、48、60、72、96 h 分别测定  $D$  值(图 3A 和图 3B)。同时，将  $D_{730\text{ nm}}=0.5$  的蓝细菌进行一系列稀释并打点到固体培养基上，置于光照培养箱中培养 5~7 d(图 3C)。



A.不同浓度的  $\text{KHCO}_3$  对 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 生长速率的影响；B.不同浓度的  $\text{KHCO}_3$  对 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 生长速率的影响；C.  $D_{730\text{ nm}}=0.5$  的菌被一系列稀释并打点到固体培养基。A.Effects of different concentrations of  $\text{KHCO}_3$  on the growth rate of *Anabaena* sp. strain PCC 7120；B.Effects of different concentrations of  $\text{KHCO}_3$  on the growth rate of *Synechocystis* sp. strain PCC 6803；C.Cells suspended at  $D_{730\text{ nm}}=0.5$  were serially diluted and spotted on solid medium.

图 3 蓝细菌 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 及 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 在不同浓度  $\text{KHCO}_3$  液体及固体培养基中的生长

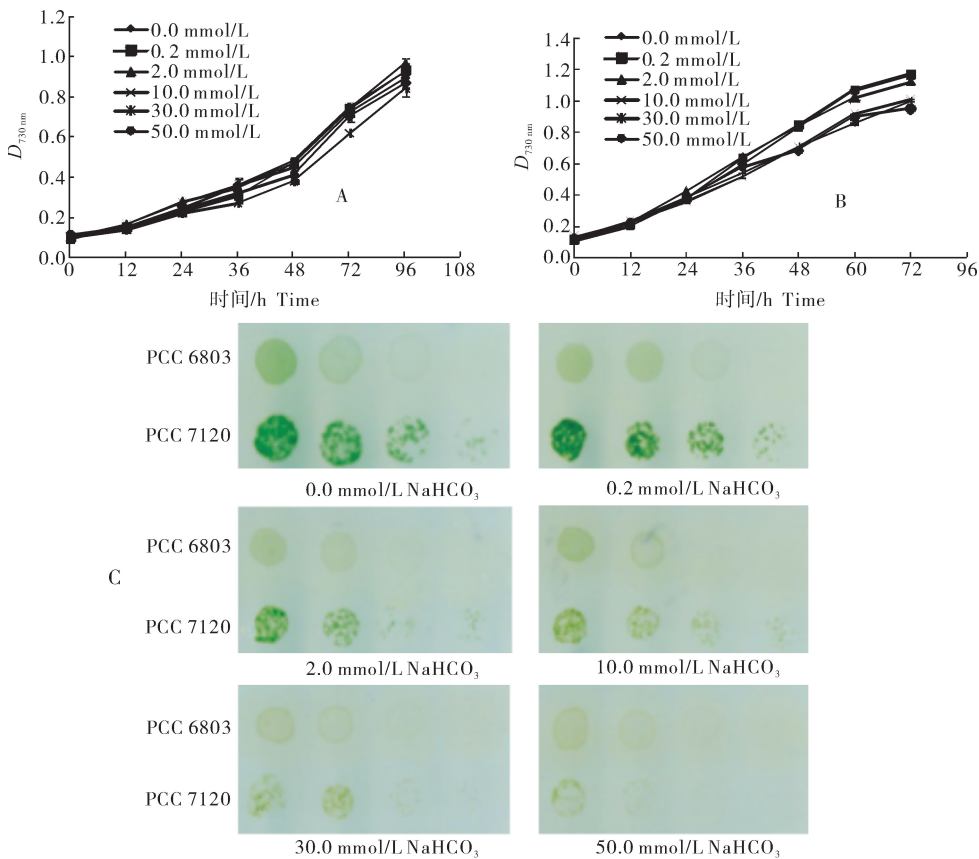
Fig.3 Growth of *Anabaena* sp. strain PCC 7120 and *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 in different concentrations of  $\text{KHCO}_3$  liquid and solid medium

结果显示，向 BG11 培养基中加入不同浓度的  $\text{KHCO}_3$ ，当浓度达到 30 000 或 50 000  $\mu\text{mol/L}$  时，2 种蓝细菌的生长都受到抑制。当浓度为 0~

10 000  $\mu\text{mol/L}$ ，鱼腥蓝细菌 PCC 7120 的生长状态逐渐改善，而集胞蓝细菌 PCC 6803 的生长变化差异不显著。

不同浓度  $\text{KHCO}_3$  对蓝细菌生长产生了影响，然而无法确定是  $\text{K}^+$  的作用还是  $\text{HCO}_3^-$  的作用，因此，又配制了不同浓度  $\text{NaHCO}_3$  的液体及固体培养基。将活化好的蓝细菌按照 10% 的接种量接种到

上述液体培养基中使其  $D_{730\text{ nm}}=0.1$ ，培养 0、12、24、36、48、60、72、96 h 分别测定  $D$  值(图 4A 和图 4B)。同时，将  $D_{730\text{ nm}}=0.5$  的蓝细菌进行系列稀释并打点到固体培养基上，置于光照培养箱中培养 5~7 d



A.不同浓度的  $\text{NaHCO}_3$  对 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 生长速率的影响；B.不同浓度的  $\text{NaHCO}_3$  对 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 生长速率的影响；C. $D_{730\text{ nm}}=0.5$  的菌被一系列稀释并打点到固体培养基。A.Effects of different concentrations of  $\text{NaHCO}_3$  on the growth rate of *Anabaena* sp. strain PCC 7120；B.Effects of different concentrations of  $\text{NaHCO}_3$  on the growth rate of *Synechocystis* sp. strain PCC 6803；C.Cells suspended at  $D_{730\text{ nm}}=0.5$  were serially diluted and spotted on solid medium.

图 4 蓝细菌 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 及 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 在不同浓度  $\text{NaHCO}_3$  液体及固体培养基中的生长

Fig.4 Growth of *Anabaena* sp. strain PCC 7120 and *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 in different concentrations of  $\text{NaHCO}_3$  liquid and on solid medium

(图 4C)。

结果显示，当加入 30 000 或 50 000  $\mu\text{mol/L}$   $\text{NaHCO}_3$  时，2 种蓝细菌的生长都受到了比较大的影响。加入  $\text{NaHCO}_3$  浓度为 200  $\mu\text{mol/L}$ ，集胞蓝细菌 PCC 6803 的生长状态较好。加入浓度为 0~2 000  $\mu\text{mol/L}$  时，鱼腥蓝细菌 PCC 7120 的生长状态较好，其中 200  $\mu\text{mol/L}$  时即可恢复生长。

与加入不同浓度  $\text{NaHCO}_3$  相比，当加入不同浓度  $\text{KHCO}_3$  时，蓝细菌的生长状态较好，结合上面实验结果，发现  $\text{KHCO}_3$  及  $\text{NaHCO}_3$  对蓝细菌生长的影响很可能是由金属阳离子导致的。

3)不同浓度的  $\text{FeNa}_2\text{-EDTA}$  对蓝细菌生长的影响。 $\text{Fe}$  作为微量元素对微生物的生长十分重要，为了研究  $\text{FeNa}_2\text{-EDTA}$  对蓝细菌生长的影响，配置了不同浓度铁盐的液体及固体培养基。将活化好的蓝细菌按照 10% 的接种量接种到上述液体培养基中使其  $D_{730\text{ nm}}=0.1$ ，培养 0、12、24、36、48、60、72、96 h 分别测定  $D$  值(图 5A 和图 5B)。同时，将  $D_{730\text{ nm}}=0.5$  的蓝细菌进行系列稀释并打点到固体培养基上，置于光照培养箱中培养 5~7 d(图 5C)。需要特别说明的是，培养蓝细菌前三角瓶应提前放置稀盐酸中充分浸泡并用去离子水充分洗涤，以免

瓶壁上残留 Fe 离子干扰实验。

结果显示,当缺乏铁时,2 种蓝细菌的生长都会受到影响,鱼腥蓝细菌 PCC 7120 受到的影响较大。随着营养物质  $\text{FeNa}_2\text{-EDTA}$  的加入,2 种蓝细菌的

生长状态明显变好。加入  $\text{FeNa}_2\text{-EDTA}$  浓度为  $5\text{ }\mu\text{mol/L}$  时,集胞蓝细菌 PCC 6803 生长最好。加入  $\text{FeNa}_2\text{-EDTA}$  浓度为  $10\text{ }\mu\text{mol/L}$  时,鱼腥蓝细菌 PCC 7120 的生长较好。

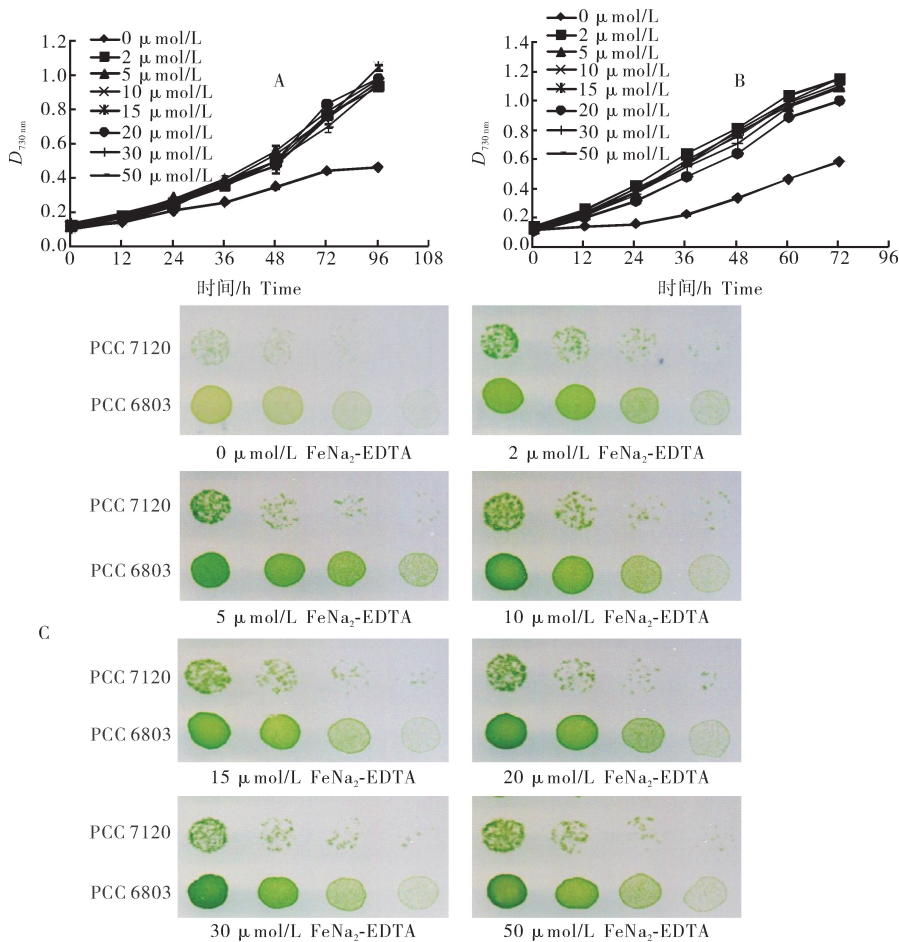


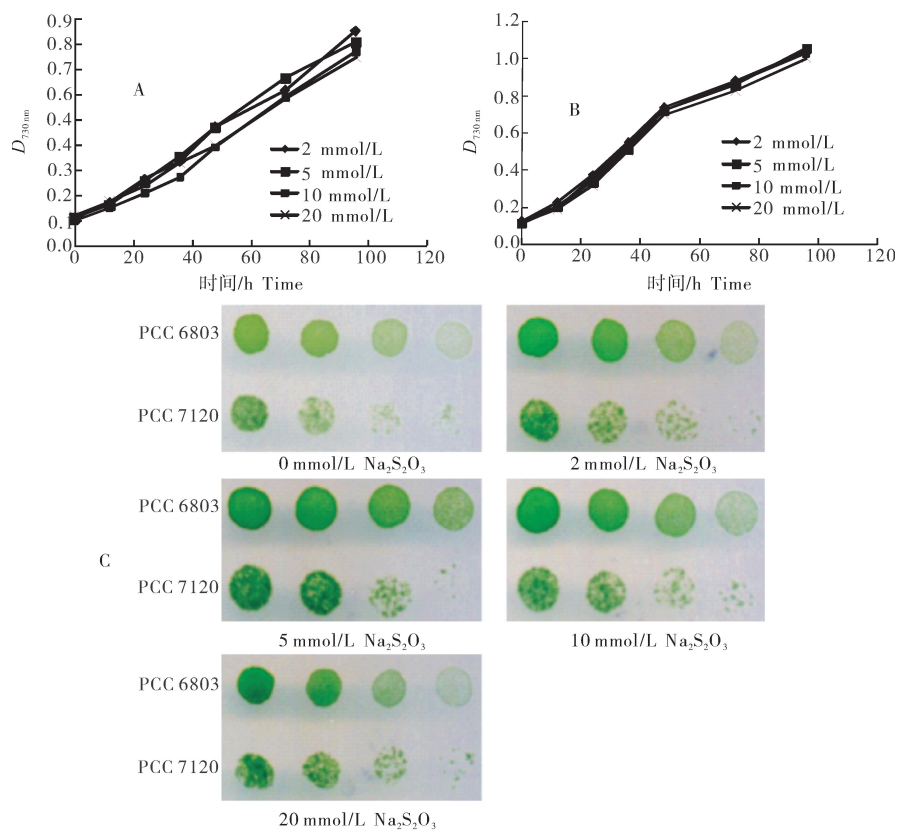
图 5 蓝细菌 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 及 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 在不同浓度  $\text{FeNa}_2\text{-EDTA}$  液体及固体培养基中的生长

Fig.5 Growth of *Anabaena* sp. strain PCC 7120 and *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 in different concentrations of  $\text{FeNa}_2\text{-EDTA}$  liquid and on solid medium

4)不同浓度的  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  对蓝细菌生长的影响。硫代硫酸钠( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ )是无机硫化物,它不是 BG11 培养基营养的一部分。然而,有研究显示,当 BG11 固体培养基中添加一定量  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  时,蓝细菌的生长会更好<sup>[12]</sup>。为了进一步研究  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  对蓝细菌生长的影响,配制了不同浓度  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  的液体及固体培养基。将活化好的蓝细菌按照 10% 的接种量接种到上述液体培养基中使其  $D_{730\text{ nm}}=0.1$ ,培养 0、12、24、36、48、60、72、96 h 分别测定  $D$  值(图 6A 和

图 6B)。同时,将  $D_{730\text{ nm}}=0.5$  的蓝细菌进行系列稀释并打点到固体培养基上,置于光照培养箱中培养 5~7 d(图 6C)。

结果显示,固体培养时, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  对 2 种蓝细菌的生长都有刺激作用,然而在液体培养基中影响不显著。加入  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  浓度较高时,2 种蓝细菌的生长都受到了抑制。当加入  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  的浓度为 0~5 000  $\mu\text{mol/L}$  时,鱼腥蓝细菌 PCC 7120 生长较好,当加入  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  的浓度为 2 000~5 000  $\mu\text{mol/L}$



A.不同浓度的  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  对 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 生长速率的影响；B.不同浓度的  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  对 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 生长速率的影响；C.  $D_{730\text{nm}} = 0.5$  的菌被一系列稀释并打点到固体培养基。A.Effects of different concentrations of  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  on the growth rate of *Anabaena* sp. strain PCC 7120;B.Effects of different concentrations of  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  on the growth rate of *Synechocystis* sp. strain PCC 6803;C.Cells suspended at  $D_{730\text{nm}} = 0.5$  were serially diluted and spotted on solid medium.

图 6 蓝细菌 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 及 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 在不同浓度  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  液体及固体培养基中的生长

Fig.6 Growth of *Anabaena* sp. strain PCC 7120 and *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 in different concentrations of  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  liquid and solid medium

时,集胞蓝细菌 PCC 6803 的生长状态较好。

3 讨 论

培养基的组成是影响微生物生长状态的重要因素。尽管 BG11 作为一种通用培养基广泛用于蓝细菌的培养,然而不同的蓝细菌对营养物质的需求不尽相同。本研究探讨了几种营养元素对蓝细菌生长的影响,为后续培养基的优化提供了一定的理论基础,同时为减少生产成本提供了技术保障。

本研究探讨了几种营养元素及培养基添加剂  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  对蓝细菌 *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 及 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 生长的影响。BG11 培养基中  $\text{NO}_3^-$  的浓度为 17 mmol/L,但本研究发现,10 000  $\mu\text{mol/L}$  的  $\text{NO}_3^-$  即可满足 2 种蓝细菌的正常生长,硝酸盐用量的减少可大大降低工业上蓝细菌养殖的成本。加入 2 000  $\mu\text{mol/L}$  或

10 000  $\mu\text{mol/L}$  的  $\text{KHCO}_3$  和  $\text{NaHCO}_3$  时,鱼腥蓝细菌 *Anabaena* sp. strain PCC 7120 都能够更好地生长,说明无机碳营养  $\text{HCO}_3^-$  的增加能够进一步刺激其生长。*Synechocystis* sp. strain PCC 6803 对无机碳的需求稍有不同,其在培养基中含 200  $\mu\text{mol/L}$  或 2 000  $\mu\text{mol/L}$   $\text{NaHCO}_3$  时生长较好。值得注意的是,2 种碳酸氢盐对蓝细菌生长的影响不一致,这说明阳离子也对蓝细菌的生长的影响较为明显。当加入  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  的浓度分别为 0~5 000  $\mu\text{mol/L}$ 、2 000~5 000  $\mu\text{mol/L}$  时,鱼腥蓝细菌 PCC 7120 及集胞蓝细菌 PCC 6803 都能达到较好的生长状态。当缺乏微量元素 Fe 时,2 种蓝细菌的生长都会受到很大影响。加入  $\text{FeNa}_2\text{-EDTA}$  浓度为 5  $\mu\text{mol/L}$  时,集胞蓝细菌 PCC 6803 的生长最好,10  $\mu\text{mol/L}$  的  $\text{FeNa}_2\text{-EDTA}$  则对鱼腥蓝细菌 PCC 7120 的生长较好。

微量元素对蓝细菌生长及生理过程有诸多影响。例如,铁元素有助于叶绿素的合成;锰元素可以加快蓝细菌光合速率;铜离子是蓝细菌光合和呼吸作用中多种酶的辅助因子;钙对碳水化合物形成与转化有重要影响;镁是叶绿素的组成成分之一<sup>[7-9]</sup>。然而,蓝细菌对这些金属元素利用的最佳浓度并不是很清楚,本研究中只是探索了铁对 2 种蓝细菌生长的影响,而钙、镁等其他微量元素的影响并没有探究,有待后续进一步研究。同时,实验中没有涉及到多组分营养元素组合效果的研究,这也是本研究的不足之处,希望在以后的工作中加以改进。

参 考 文 献

[1] VERMAAS W.Molecular genetics of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 principles and possible biotechnology applications[J].Journal of applied phycology,1996,8(4):263-273.

[2] 吴桂芳,吴庆余,沈忠耀.培养条件对蓝细菌生长及 PHB 积累的影响[J].清华大学学报,2001,41(6):30-33.

[3] KANEKO T,NAKAMURA Y,WOLK C P,et al.Complete genomic sequence of the filamentous nitrogen-fixing cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120[J].DNA research,2001,8(5):205-213.

[4] KANEKO T,SATO S,KOTANI H,et al,et al.Sequence anal-

ysis of the genome of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. II.Sequence determination of the entire genome and assignment of potential protein-coding regions[J].DNA research,1996,3(3):109-136.

[5] 苏波,陈雯莉,王莉.鱼腥蓝细菌 PCC 7120 中 *sigC* 突变体的构建和表型分析[J].华中农业大学学报,2015,34(3):46-50.

[6] WOLK C P,ERNST A,ELHAI J.Heterocyst metabolism and development[M]//BRYANT D A.The molecular biology of cyanobacteria.Dordrecht:Springer Netherlands,1994:769-823.

[7] 郭延,王志红,骆科枢,等.4 种营养元素对水华鱼腥藻和四尾栅藻增殖的影响[J].环境工程学报,2015,9(5):2113-2118.

[8] NAITO K,MATSUI M,IMAI I.Ability of marine eukaryotic red tide microalgae to utilize insoluble iron[J].Harmful algae,2005,4(6):1021-1032.

[9] 李林,朱伟,罗永刚.钙、镁离子在水流作用下在铜绿微囊藻生长的影响[J].环境科学与技术,2012,35(5):9-13.

[10] 刘光钊.水体富营养及其藻害[M].北京:中国环境科学出版社,2005.

[11] KEHR J C,ZILLIGES Y,SPRINGER A,et al.A mannan binding lectin is involved in cell-cell attachment in a toxic strain of *Microcystis aeruginosa* [J].Mol Microbiol,2006,59(3):893-906.

[12] WANG Z N,XU Y N,YANG Z L,et al.Effects of sodium thiosulfate on the occurrence of a novel glycolipid in cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 cells grown in the presence of glucose[J].Acta Botanica Sinica,2003,45(5):589-593.

Effects of important nutrition elements in medium on the growth of *Anabaena* sp. strain PCC 7120 and *Synechocystis* sp. strain PCC 6803

GAO Liangchun ZHANG Juyuan WANG Li CHEN Wenli

State Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

**Abstract** The cyanobacteria of *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 and *Anabaena* sp. strain PCC 7120 are important models in basic and applied studies.Both species are conventionally cultured in BG11, although they show very distinct physiology.The effects of several nutrients in BG11 medium on the growth of *Anabaena* sp. strain PCC 7120 and *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 were investigated.Results showed that the growth of *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 and *Anabaena* sp. strain PCC 7120 was best at 10 mmol/L  $\text{NO}_3^-$  and 2 mmol/L  $\text{NO}_3^-$ , respectively.Different concentrations of  $\text{KHCO}_3$  and  $\text{NaHCO}_3$  had different effects on the growth,indicating that both metal ions and  $\text{HCO}_3^-$  had a major role.For  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  and Fe,the growth of *Anabaena* sp. strain PCC 7120 and *Synechocystis* sp. strain PCC 6803 was best at 10 mmol/L and 10  $\mu\text{mol/L}$ , respectively.

**Keywords** cyanobacteria; medium; nutrient element; *Anabaena*; *Synechocystis*

(责任编辑:张志钰)