

# 四个类群海洋蛭弧菌类生物生长特性的比较

温崇庆<sup>1,2</sup> 薛明<sup>1</sup> 周世宁<sup>2\*</sup>

(1. 广东海洋大学 水产学院 广东 湛江 524025)

(2. 中山大学生命科学学院 有害生物控制与资源利用国家重点实验室 广东 广州 510275)

**摘要:** 研究了噬菌弧菌科(Bacterioviraceae) 4个类群共12株海洋蛭弧菌类生物(*Bdellovibrio*-and-like organisms, BALOs)的生长温度和盐度范围及其对6种常见对虾病原弧菌的裂解能力,并通过透射电镜分析了其中4个代表菌株的形态特征。结果表明,同一群或亚群内菌株的生长温度或盐度相同,即类群IV、VI、IX、X菌株的生长温度范围分别为20°C~35°C、15°C~35°C、15°C~40°C和10°C~40°C,最适生长温度为30°C或35°C;生长盐度范围分别为5‰~40‰、2.5‰~30‰、5‰~60‰和5‰~60‰,最适生长盐度分别为10‰、5‰、20‰和20‰。测试的6种弧菌中有3种可被全部BALOs裂解,而其它弧菌仅被部分BALOs裂解,但即使同一类群菌株,对某些弧菌也表现不同的裂解能力。形态上,4株不同类群BALOs均呈典型的弧状细胞,具极生单鞭毛。

**关键词:** 海洋蛭弧菌类生物, 噬菌弧菌科, 温度, 盐度, 弧菌, 裂解能力, 形态

## Comparison of Growth Characteristics of Four Clusters of Marine *Bdellovibrio*-and-like Organisms

WEN Chong-Qing<sup>1,2</sup> XUE Ming<sup>1</sup> ZHOU Shi-Ning<sup>2\*</sup>

(1. Fisheries College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524025, China)

(2. State Key Laboratory for Biocontrol, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong 510275, China)

**Abstract:** The temperature and salinity ranges for growth of twelve strains of marine *Bdellovibrio*-and-like organisms (BALOs) which affiliated with four different phylogenetic clusters in the family Bacterioviraceae and the lytic ability of them to six kinds of common shrimp pathogen vibrios were studied. The morphological characteristics of four representative strains were examined with transmission electron microscope. The results showed that the strains within the same cluster or sub-cluster had identical growth temperature or salinity. The growth temperature ranges of clusters IV, VI, IX and X strains were 20°C~35°C, 15°C~35°C, 15°C~40°C, 10°C~40°C, respectively, and the optimum growth temperature was about 30°C or 35°C. The growth salinity ranges of clusters IV, VI, IX and X strains were 5‰~40‰, 2.5‰~30‰, 5‰~60‰ and 5‰~60‰, and the optimum salinities were about 10‰, 5‰, 20‰ and 20‰, respectively. Three of the six kinds of vibrios tested were lysed by all the BALOs, while the others could only be lysed by some of the BALOs. However, differential lysis to some of the vibrios was also observed among BALOs within the same cluster. The four strains of different clusters all exhibited typical BALOs morphology, hav-

ing vibrioid cell with a single polar flagellum.

**Keywords:** Marine *Bdellovibrio*-and-like organisms, Bacteriovoraceae, Temperature, Salinity, Vibrio, Lytic ability, Morphology

蛭弧菌类生物(*Bdellovibrio*-and-like organisms, BALOs), 是一类能捕食其它革兰氏阴性菌为生的小型寄生性细菌, 普遍存在于土壤、水体和生物膜等环境中<sup>[1]</sup>。BALOs具有独特的二态生活周期: 游离的攻击期细胞识别和侵入宿主菌, 在其周质空间中利用宿主细胞成分为营养进行丝状生长, 通过复分裂进行增殖, 最后裂解宿主细胞并释放成熟子代个体, 开始新一轮的生活周期<sup>[1]</sup>。根据 16S rRNA 基因序列等特征, BALOs 目前被分为 2 个内在多样的科, 蛭弧菌科(Bdellovibrionaceae)和噬菌弧菌科(Bacteriovoraceae)<sup>[2]</sup>。其中海洋或咸水环境分离的嗜盐BALOs都归为噬菌弧菌科, 但在种的水平上至少可分为 8 个不同的系统群和 3 个单一分离物<sup>[3]</sup>, 目前仅群 和群 菌株具有确定的种名, 即分别为海洋噬菌弧菌(*Bacteriovorax marinus*)和海岸噬菌弧菌(*B. litoralis*)<sup>[4]</sup>。

BALOs的多样性和普遍性表明, 它们可能对环境微生物的群体结构和动力产生重要影响<sup>[2]</sup>。弧菌是近海特别是海水养殖环境中最常见的细菌类群之一, 由其引起的弧菌病是海水养殖中最普遍的细菌性疾病, 经常导致鱼、虾和贝类的大量死亡<sup>[5]</sup>。以往对嗜盐BALOs宿主范围的研究表明它们优先裂解弧菌<sup>[1]</sup>。而且Rice等<sup>[6]</sup>和Pineiro等<sup>[7]</sup>的研究都表明细菌更容易被与其分离自相同或相似环境的嗜盐BALOs裂解, Chauhan等<sup>[8]</sup>通过不依赖培养的研究也支持同样的结论。因此, 对海水养殖环境BALOs的研究, 不仅有助于了解这类捕食性细菌的生态学功能, 也可能利用其独特的捕食特性生物控制弧菌及其引起的弧菌病。

Taylor等<sup>[9]</sup>、Marbach等<sup>[10]</sup>、Amat等<sup>[11]</sup>和Sutton等<sup>[12]</sup>分别较系统的研究了美国夏威夷海岸水、以色列地中海水、西班牙地中海水和澳大利亚大堡礁海水中分离的海洋BALOs若干生长特性。国内的Pan等<sup>[13]</sup>、杨淑专等<sup>[14]</sup>、苏国成等<sup>[15]</sup>、宋志萍等<sup>[16]</sup>和Cai等<sup>[17]</sup>分别研究了分离自中国台湾海岸和养殖池海水、厦门海岸水、深圳海岸水的一些或一株海洋BALOs的某些生长特性。限于当时对BALOs系统多样性认识不足等原因, 上述研究中的海洋BALOs都

缺少系统分类的背景, 因此所研究的菌株间难以进行有效的比较。

本研究主要报道 4 个类群共 12 株海洋 BALOs 的生长温度和盐度范围, 及其对几种常见对虾病原弧菌的裂解能力, 并通过透射电镜研究了 4 株代表菌的形态特征, 为海洋 BALOs 生物学特性的研究及应用提供参考和依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌株

12 株海洋 BALOs 是以溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*) *zouA* 为宿主菌从广东湛江热带海水虾池或邻近海岸水中分离的, 通过 16S rRNA 序列鉴定为属于噬菌弧菌科 4 个不同系统群的海军BALOs, 即菌株NA7 和DF2 属于群 ; NF2 和NF3 属于群 ; DB1、DD2、ND1 和NF1 属于群 ; DA5、NB2、DD1 和NE1 属于群 , 除DA5、NB2 与DD1、NE1 两个亚群间序列相似性为 98.5%外, 同一群或亚群内菌株间相似性均为 99%以上<sup>[18]</sup>。

用于宿主裂解试验的对虾病原弧菌: 除溶藻弧菌 *zouA* (*zouA*)和副溶藻弧菌(*V. parahaemolyticus*) *zouB*<sup>[19]</sup>是作者以前从患弧菌病的对虾幼体中分离并鉴定的菌株外, 溶藻弧菌AL0078、哈氏弧菌(*V. harveyi*)H、鳃弧菌(*V. anguillarum*)AN0306、创伤弧菌(*V. vulnificus*)V0105 和河流弧菌(*V. fluvialis*)R0208 均为中国水产科学研究院南海水产研究所刘广峰博士馈赠。

### 1.2 海水和培养基

实验用海水为盐度 30‰左右的天然陈海水, 以 dH<sub>2</sub>O 或 NaCl 调整至所需盐度。如不特别说明, 稀释海水通常指盐度 20‰, pH 8.0 的海水;

稀释海水营养肉汤 (北京陆桥公司), 用于弧菌的液体培养;

稀释海水双层琼脂培养基, 底层含 1%琼脂, 上层含 0.5%琼脂和终含量约 5×10<sup>8</sup> CFU/mL 的弧菌细胞。生长盐度试验时以 pH 8.0, 盐度不同的海水分别配制;

宿主菌稀释海水培养基: 稀释海水灭菌冷却后,

加入终含量约  $5 \times 10^8$  CFU/mL的zouA或其它弧菌细胞, 用于海洋BALOs的液体培养或宿主裂解试验。

### 1.3 宿主细胞制备和 BALOs 液体培养

取  $30^\circ\text{C}$  振荡培养过夜的弧菌培养液,  $10000\text{ r/min}$ ,  $4^\circ\text{C}$ 离心  $10\text{ min}$ , 以稀释海水漂洗细胞, 再次离心后配成含量约  $1 \times 10^{10}$  CFU/mL的海水宿主细胞悬液(悬浮zouA细胞用海水的盐度与相应测试盐度保持一致),  $4^\circ\text{C}$ 保存, 1周内使用。

将 BALOs 接种到宿主菌(zouA)稀释海水培养基中,  $30^\circ\text{C}$  振荡培养至二元培养物明显变清时备用, 即宿主 zouA 被裂解完全且含有大量攻击期 BALOs 细胞。

### 1.4 生长温度和盐度试验

将各BALOs新鲜培养液通过  $0.45\ \mu\text{m}$ 滤器过滤, 获得去除宿主细胞的攻击期BALOs, 并以无菌海水稀释至约  $10^2$  PFU/mL~ $10^3$  PFU/mL。取各BALOs滤液  $50\ \mu\text{L}$ 、 $200\ \mu\text{L}$ 分别加入  $0.2\ \text{mL}$  zouA细胞悬液中, 再各加入  $3.75\ \text{mL}$ 、 $3.6\ \text{mL}$ 融化至  $42^\circ\text{C}$ 左右的稀释海水上层琼脂, 立即混匀并倾注到预倒好的稀释海水底层琼脂(约  $10\ \text{mL}$ )上, 完全冷凝后倒置培养。温度试验时, 上述 2 个浓度的双层平板分别于  $5^\circ\text{C}$ 、 $10^\circ\text{C}$ 、 $15^\circ\text{C}$ 、 $20^\circ\text{C}$ 、 $25^\circ\text{C}$ 、 $30^\circ\text{C}$ 、 $35^\circ\text{C}$ 、 $40^\circ\text{C}$ 和  $45^\circ\text{C}$ 培养, 温度波动范围为 $\pm 1.5^\circ\text{C}$ 。分别以盐度为  $0(\text{dH}_2\text{O})$ 、 $2.5\%$ 、 $5\%$ 、 $10\%$ 、 $20\%$ 、 $30\%$ 、 $40\%$ 、 $50\%$ 、 $60\%$ 和  $70\%$ 的双层平板测试生长盐度范围, 均于  $30^\circ\text{C}$ 培养。

每天观测各平板上的噬斑生长情况, 直到噬斑数量不再增加为止, 最多培养至  $25\ \text{d}$ , 根据噬斑的有无确定各菌株的生长温度或盐度范围, 从不同温度或盐度培养  $3\ \text{d}$ 的平板上, 随机选择  $10\sim 15$  个分散的噬斑测其直径大小, 以平均噬斑直径最大时的培养温度或盐度确定各菌株的最适生长温度或盐度, 另以稀释海水双层平板  $30^\circ\text{C}$  培养的最终噬斑数为参考标准, 比较其它温度或盐度下各菌株的相对成斑效率。

### 1.5 裂解弧菌试验

以双层平板法和液体培养法分别测试 BALOs 对 6 种弧菌的裂解能力。

平板法参考Pineiro等人的方法<sup>[7]</sup>略做修改, 即取过滤除去宿主菌, 含量约  $10^5$  PFU/mL~ $10^6$  PFU/mL的各BALOs  $10\ \mu\text{L}$ 点接在不同弧菌宿主(zouA为阳性对照宿主)的稀释海水双层平板上, 以无BALOs的

zouA过滤液  $10\ \mu\text{L}$ 接种在同样的宿主双层平板上作阴性对照,  $30^\circ\text{C}$ 培养, 1周内根据接种点周围有无裂解圈出现判断是否裂解被测的弧菌。

液体培养法与平板法相似, 即将  $10\ \mu\text{L}$  BALOs 或宿主zouA过滤液(阴性对照)分别接种于待测宿主菌稀释海水培养基( $10\ \text{mL}$ 螺口试管装  $1.5\ \text{mL}$ )中, 同样以zouA为阳性对照宿主菌,  $30^\circ\text{C}$ 、 $150\ \text{r/min}$ 振荡培养。1周内, 根据与阴性对照比较, 宿主培养液浊度是否明显下降(肉眼观测, 或 $OD_{600}$ 减少  $1/3$  以上)判断能否被所测的BALOs裂解。每个样品 2 个平行管, 结果一致时给出结论性判断, 不一致时则以重复试验为准, 仍不一致时则记为结果可变。

### 1.6 电镜观测

分别取  $30\ \mu\text{L}$  NA7、NF2、NB1 和 DD1 新鲜培养液于 Formvar 膜覆盖的  $200$  目铜网上自然吸附  $10\ \text{min}$ , 以  $2\%$ 的磷酸铀染色  $1\ \text{min}$ , 用滤纸吸去多余液体, 干燥后于透射电镜(JEM-2010HR, JEOL)下观察BALOs的形态特征, 并随机选择  $20$  个以上攻击期细胞测定各菌株平均细胞大小。

## 2 结果

### 2.1 生长温度

$12$  株海洋 BALOs 生长温度情况如表 1 所示。除分别属于类群 2 个亚群的菌株 DA5、NB2 较 DD1、NE1 生长温度范围和最适温度略偏低外, 同一群内各菌株的生长温度范围和最适生长温度均一致, 而不同类群菌株间则有一定差异。总体上, 除所测最高生长温度下成斑效率较其它温度的减少外, 各菌株在生长温度范围内的成斑效率相差不大(数据未表示出), 只是较低温度下需要更多的时间才能形成噬斑, 如 DA5 和 NB2 在  $30^\circ\text{C}$  或  $35^\circ\text{C}$  培养  $1\ \text{d}$  时双层平板上就有噬斑出现,  $25^\circ\text{C}$  时需要  $2\ \text{d}$ , 而  $10^\circ\text{C}$  时则需要  $15\ \text{d}$  左右。

### 2.2 生长盐度

在无盐双层平板上所有菌株均不出现噬斑, 表明这些菌株具有海洋 BALOs 对盐度依赖性的特征。与生长温度情况相似, 同一群内各菌株生长盐度范围和最适生长盐度均一致; 各菌株在较高或较低的盐度下成斑时间较最适盐度的明显延长, 且成斑效率也有所下降(数据未表示出)。其中类群 1 的 NF2 和 NF3 最适生长盐度仅为  $5\%$ , 在  $2.5\%$ 的低盐度下也能生长, 但在盐度  $40\%$ 的双层平板上则不能生长;

表 1 四个类群海洋 BALOs 的生长温度范围  
Table 1 Growth temperature ranges of four clusters of marine BALOs

温度(°C) (Temperature)	类群 (Cluster) IV		类群 (Cluster) VI		类群 (Cluster) IX				类群 (Cluster)			
	NA7	DF2	NF2	NF3	DB1	DD2	ND1	NF1	DA5	NB2	DD1	NE1
5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
15	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30	++	++	++	++	+	+	+	+	++	++	+	+
35	+	+	+	+	++	++	++	++	+	+	++	++
40	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
45	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-	-	-	-

注: +: 生长; -: 不生长; ++: 最适生长温度; ND: 未测定。

Note: +: Growth; -: No growth; ++: Optimum growth temperature; ND: Not determined.

表 2 四个类群海洋 BALOs 的生长盐度范围  
Table 2 Growth salinity ranges of four clusters of marine BALOs

盐度(‰) (Salinity)	类群 (Cluster) IV		类群 (Cluster) VI		类群 (Cluster) IX				类群 (Cluster)			
	NA7	DF2	NF2	NF3	DB1	DD2	ND1	NF1	DA5	NB2	DD1	NE1
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.5	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
5	+	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+
10	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++
30	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
50	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
60	-	-	ND	ND	+	+	+	+	+	+	+	+
70	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-	-	-	-

注: +: 生长; -: 不生长; ++: 最适生长盐度; ND: 未测定。

Note: +: Growth; -: No growth; ++: Optimum growth salinity; ND: Not determined.

类群 和 的菌株则能适应相对较广和较高的盐度, 在盐度 60‰ 时仍可生长, 且 2 d 内在盐度 10‰~40‰ 平板上均出现噬斑; 而类群 的 NA7 和 DF2 对生长盐度的要求则介于上述 2 种类型之间。

### 2.3 裂解弧菌能力

结果如表 3 所示。无论双层平板法还是液体培养法, 所有 BALOs 对溶藻弧菌和副溶血弧菌均能裂解; 液体培养下所有 BALOs 对哈氏弧菌均表现为裂解作用, 但双层平板法测试时除群 所有菌株和群 IV 的 DF2 能给出一致结果外, 其它菌株对哈氏弧菌均表现为可变的裂解作用; 不同类群 BALOs 对其它 3 种弧菌则表现不同的裂解能力, 其中类群 菌株

裂解范围相对最广, 而类群 菌株对 3 种弧菌都不能裂解, 即使同一群内的某些菌株对同一种弧菌也表现差异性裂解。总体上, 同一群的 BALOs 具有相同或相近的裂解弧菌模式。

### 2.4 形态特征

透射电镜下, 4 个类群海洋 BALOs 攻击期细胞形态特征如图 1 所示。所有菌株都表现为典型的 BALOs 形态特征<sup>[1]</sup>, 即具有极生单鞭毛的小型弧状细胞。类群 、 、 的代表性菌株 NA7、NF2、NB1 和 DD1 的平均细胞大小(长×宽, μm)分别为 0.87 (±0.14) × 0.25 (±0.04)、0.88 (±0.12) × 0.20 (±0.03)、0.97 (±0.18) × 0.27 (±0.05) 和 0.80 (±0.17) × 0.31 (±

表 3 四个类群海洋 BALOs 对弧菌的裂解能力  
Table 3 Lytic ability of four clusters of marine BALOs against vibrios

宿主弧菌 (Prey vibrios)	类群 (Cluster) IV		类群 (Cluster) VI		类群 (Cluster) IX				类群 (Cluster)			
	NA7	DF2	NF2	NF3	DB1	DD2	ND1	NF1	DA5	NB2	DD1	NE1
<i>V. alginolyticus</i> zouA	++*	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>V. alginolyticus</i> AL0078	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>V. parahaemolyticus</i> zouB	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
<i>V. harveyi</i> H	V+	++	V+	V+	V+	V+	V+	V+	++	++	++	++
<i>V. anguillarum</i> AN0306	V+	++	--	--	--	--	-V	-V	-V	-V	--	--
<i>V. vulnificus</i> V0105	++	-+	--	--	--	V-	V-	-	V+	-+	VV	--
<i>V. fluvialis</i> R0208	-+	V+	--	--	++	++	++	++	++	++	++	++

注: +: 裂解; -: 不裂解; V: 裂解结果可变; \*: 左边和右边的结果分别为双层平板法和液体培养法测试的。

Note: +: Lysis; -: No lysis; V: Variable lysis result; \*: The left and right results were respectively determined by double-layer plate method and liquid testing method.

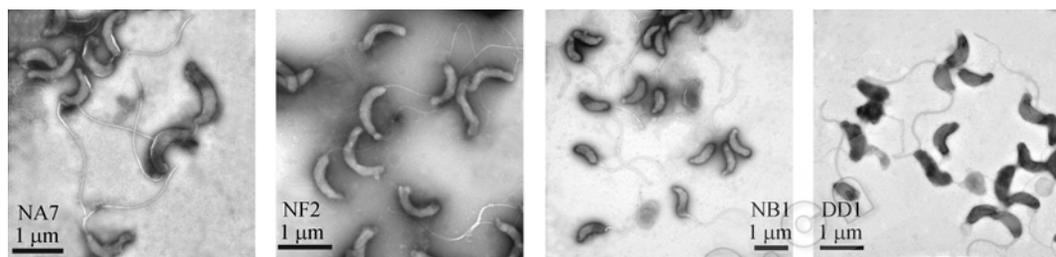


图 1 透射电镜下海洋 BALOs 的形态特征

Fig. 1 Transmission electron micrographs of marine BALOs

0.06)。

### 3 讨论

1962 年 Stolp 首次从土壤中分离并报道了 BALOs 的发现, 此后许多研究者从不同生态环境中分离到这类具有独特捕食特性的细菌, 然而从其发现后的将近 40 年, 不同来源 BALOs 均被视为单一群体包括在蛭弧菌属 (*Bdellovibrio*) 进行研究<sup>[1]</sup>。本研究首次综合报道了不同系统类群海洋 BALOs 的若干生长特性。

温度、盐度和宿主菌很可能是决定 BALOs 生长及其生态分布的 3 个最重要环境因素<sup>[1]</sup>。本研究 4 个类群( 、 、 、 ) BALOs 生长温度情况总体上与 Marbach 等<sup>[10]</sup>对地中海海岸水和 Sutton 等<sup>[12]</sup>对大堡礁海水分离的 BALOs 的研究结果相似, 即所有菌株在 35°C 都能生长, 有的在最低 10°C 或最高 40°C 也能生长, 而 Williams 等<sup>[1]</sup>从气候相对较冷的美国 Chesapeake 海湾分离的海洋 BALOs 在 35°C 时均不能生长。本研究中所有 BALOs 最初均分离自温度 30°C~32°C 的海水<sup>[18]</sup>, 而 Pineiro 等从不同的热带或温带海水环境中也分离到许多属于类群 、 和 的 BALOs, 甚至从寒带的白令海岸水中也分离到类

群 菌株<sup>[3]</sup>; 而类群 的其它菌株目前仅 Davidov 等从以色列 1 个盐分相对较高的土壤中分离到<sup>[1,2]</sup>。以上表明海洋 BALOs 的温度生长特性明显与其分离源的温度相适应, 而与其所属系统群的相关性可能并不大, 但正如本文研究所证实, 相似环境同一系统群或亚群 BALOs 应具有较一致的生长温度要求(表 1)。

以往研究表明淡水或陆生来源 BALOs 能耐受的 NaCl 含量小于 5‰, 而海洋或嗜盐 BALOs 对 NaCl 含量的最低要求则为 5‰ 以上<sup>[4]</sup>。本研究 BALOs 被检测到的最高生长盐度(60‰)与 Marbach 等<sup>[10]</sup>对地中海海岸水 BALOs 的研究结果(59.6‰)相似, 所不同的是最低生长盐度上, 本研究中所有 BALOs 均可在 5‰ 及其以上的盐度中生长, 其中类群 菌株在 2.5‰ 的极低盐度下仍能生长, 而 Marbach 等的结果则为 11.9‰, 且他们研究的 10 株 BALOs 中有 8 株最低盐度要求为 23.8‰。这可能与两者的菌株来源或种群不同有关, 也可能由于测试条件有所不同而引起的。如本研究盐度测试培养基是以 dH<sub>2</sub>O 或 NaCl 调整天然海水至所需盐度配制的, 而后者则以不同浓度的基础盐配制的。Williams 等<sup>[1]</sup>对 Chesapeake 海湾 BALOs 的研究初步表明, 从盐度 5‰~15‰ 的中、

北部海湾区与盐度 20‰~30‰邻近大洋的南部海湾区分离的BALOs类群明显不同,前者局限于能在较低盐度下生长的“海湾型”BALOs,后者则属于需要较高盐度的“海洋型”BALOs。结合本研究中不同类群BALOs生长盐度范围特别是最适盐度和相关菌株最初分离源的盐度<sup>[18]</sup>较适应,我们推测盐度很可能直接影响海洋BALOs的种群分布,即不同系统群的海洋BALOs有其特定的生长盐度范围,当然确切的结论需要更多研究来验证。

尽管宿主范围测试在 BALOs 系统分类和鉴定上并不能提供可靠依据,但据此可有效区分特定环境 BALOs 的表型差异和了解这些捕食者对特定细菌类群的可能影响,因此具有重要的生态学意义<sup>[1]</sup>。通过 2 种方法对几种弧菌的裂解测试表明,即使同一类群BALOs,对某些弧菌也表现出不同的裂解能力(表3),这反映了BALOs菌株间对宿主细菌的差异化选择和捕食。相对平板法而言,液体培养法可能更接近BALOs在水体中裂解细菌的情况。但无论哪种方法,对某些弧菌的平行裂解测试中,均出现可变的的结果,多次重复试验也如此。Pineiro等<sup>[7]</sup>对大盐湖BALOs宿主裂解试验时首先报道了这种现象。排除人为操作上的原因,这种裂解宿主可变性的机制值得进一步探讨。

BALOs独特的捕食性生活方式,限制了其形态特征的多样性<sup>[10]</sup>,使得无论海洋还是陆生BALOs攻击期细胞都具有相似的形态学特征:具极生单鞭毛的小型弧状细胞,并以此执行相似的捕食细菌时的侵入功能<sup>[20]</sup>。毫无例外,本研究中 4 株不同类群海洋BALOs均展示这种典型的形态特征。此外,我们注意到相同的培养条件下,菌株NA7 和NF2 特别是NF2 的平均细胞宽度,明显小于NB1 和DD1 的(图1)。考虑到本研究中液体培养BALOs的盐度均为20‰,正好与NB1 和DD1 的最适生长盐度相一致,而NA7 和NF2 最适盐度则分别为 10‰和 5‰(表 2),很可能由此导致细胞收缩而使细胞宽度相对变细。Amat等<sup>[11]</sup>在不同盐度下培养同一株BALOs,也注意到这种较高盐度下细胞明显变细的现象。

## 参 考 文 献

- [1] Jurkevitch E. Predatory Prokaryotes. Berlin: Springer, 2007, pp.24-31, 191-248.
- [2] Davidov Y, Jurkevitch E. Diversity and evolution of *Bdellovibrio*-and-like organisms (BALOs), reclassification of *Bacteriovorax starrii* as *Peredibacter starrii* gen.

- nov., comb. nov., and description of the *Bacteriovorax*-*Peredibacter* clade as *Bacteriovoracaceae* fam. nov.. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2004, **54**(5): 1439-1452.
- [3] Pineiro SA, Stine OC, Chauhan A, et al. Global survey of diversity among environmental saltwater *Bacteriovoracaceae*. *Environ Microbiol*, 2007, **9**(10): 2441-2450.
- [4] Baer ML, Ravel J, Piñeiro SA, et al. Reclassification of salt-water *Bdellovibrio* sp. as *Bacteriovorax marinus* sp. nov. and *Bacteriovorax litoralis* sp. nov.. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2004, **54**(4): 1011-1016.
- [5] Thompson FL, Iida T, Swings J. Biodiversity of vibrios. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2004, **68**(3): 403-431.
- [6] Rice TD, Williams HN, Turng BF. Susceptibility of bacteria in estuarine environments to autochthonous bdellovibrios. *Microb Ecol*, 1998, **35**(3): 256-264.
- [7] Pineiro SA, Sahaniuk GE, Romberg E, et al. Predation pattern and phylogenetic analysis of *Bdellovibrionaceae* from the Great Salt Lake, Utah. *Curr Microbiol*, 2004, **48**(2): 113-117.
- [8] Chauhan A, Williams HN. Response of *Bdellovibrio* and like organisms (BALOs) to the migration of naturally occurring bacteria to chemoattractants. *Curr Microbiol*, 2006, **53**(6): 516-522.
- [9] Taylor VI, Bauman P, Reichelt JL, et al. Isolation, enumeration, and host range of marine *Bdellovibrios*. *Arch Microbiol*, 1974, **98**(1): 101-114.
- [10] Marbach A, Varon M, Shilo M. Properties of marine bdellovibrios. *Microb Ecol*, 1976, **2**(4): 284-295.
- [11] Amat AS, Torrella F. Isolation and characterization of marine and salt pond halophilic bdellovibrios. *Can J Microbiol*, 1989, **35**(8): 771-778.
- [12] Sutton DC, Besant PJ. Ecology and characteristics of bdellovibrios from three tropical marine habitats. *Mar Biol*, 1994, **119**(2): 313-320.
- [13] Pan CL, Hsu YL, Tsai GJ, et al. Isolation and identification of *Bdellovibrio* from coastal areas of Taiwan. *Fisheries Sci*, 1997, **63**(1): 52-59.
- [14] 杨淑专, 黄庆辉. 海洋噬菌蛭弧菌对对虾病原菌及其他细菌的寄生作用. 厦门大学学报(自然科学版), 1997, **36**(3): 449-453.
- [15] 苏国成, 周常义, 江 凯, 等. 海洋蛭弧菌 BDSG1 的发酵培养条件研究. 集美大学学报(自然科学版), 2006, **11**(4): 289-294.
- [16] 宋志萍, 蔡俊鹏, 王 志, 等. 蛭弧菌的分离及其生长条件和裂解能力的研究. 微生物学报, 2005, **45**(4): 571-575.
- [17] Cai JP, Zhao J, Wang Z, et al. Lysis of vibrios by *Bdellovibrio*-and-like organisms (BALOs) isolated from marine environment. *J Food Safety*, 2008, **28**(2): 220-235.
- [18] Wen CQ, Lai XT, Xue M, et al. Molecular typing and identification of *Bdellovibrio*-and-like organisms isolated from seawater shrimp ponds and adjacent coastal waters. *J Appl Microbiol*, 2009, **106**(4): 1154-1162.
- [19] 温崇庆, 薛 明, 何 红, 等. 两株对虾幼体弧菌病原的分离和鉴定. 微生物学通报, 2008, **35**(3): 346-352.
- [20] Lambert C, Morehouse KA, Chang CY, et al. *Bdellovibrio*: growth and development during the predatory cycle. *Curr Opin Microbiol*, 2006, **9**(6): 639-644.