

红螺菌 (*Rhodospirillum* sp.) 的生长及其饥饿存活的研究

梅志平*, 章宗涉

(上海师范大学生命与环境科学学院, 上海 200234)

摘要: 红螺菌 (*Rhodospirillum* sp.) 是在多种不同生境中广泛存在的光合细菌中的一类, 它在水产养殖上也得到了广泛应用。报道了不同生长阶段红螺菌在饥饿环境中的存活能力。红螺菌在饥饿环境中的存活能力提高。分批培养过程中, 同时测定红螺菌数和可培养活菌数的变化表明, 静止期生长期后的红螺菌难以在固体培养基上形成菌落, 进入非可培养状态。进入非可培养状态的红螺菌经复苏培养后仍可恢复在固体培养基上形成菌落的能力, 成为可培养活细菌。这些都表明静止期后的红螺菌逐渐进入休眠状态。复苏培养实验表明红螺菌进入休眠状态是由于培养基中的营养基中的营养枯竭和培养过程中积累的某些生化成分诱导引起的。

关键词: 饥饿存活; 休眠; 细菌; 红螺菌 (*Rhodospirillum* sp.)

Studies on the growth and starvation-survival of *Rhodospirillum* sp.

MEI Zhi-Ping, ZHANG Zong-She (Life and Environment Sciences College, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China)

Abstract: *Rhodospirillum* sp. is one of the most important member of photosynthetic bacteria, and can be found in a variety of natural habitats. Studies on the growth and starvation-survival of *Rhodospirillum* sp. are essential for the understanding of the adaptation of bacteria to their natural environments and for the understanding of their contribution to the energy transfer and nutrients recycling in ecosystems. *Rhodospirillum* sp. can normally survive in one month period of starvation. The resistance to starvation was enhanced as the bacteria experienced an extended period of stationary phase. The variations of the total bacterial counts and CFU in its growth process in the batch culture were monitored. As it grows to stationary phase, *Rhodospirillum* sp. enters into nonculturable state that cannot form a colony on solid media. These nonculturable bacteria can recover the ability to form a colony on solid media after resuscitation. This reflects the fact that *Rhodospirillum* sp. turns into dormant in the extended stationary phase. It was experimentally demonstrated that the dormancy of *Rhodospirillum* sp. was induced by both the depletion of nutrients and some biochemical components accumulated in media during its growth process.

Key words: starvation-survival; dormant; bacteria; *Rhodospirillum* sp.

文章编号: 1000-0933(2000)01-0118-06 中图分类号: Q938.1⁺5 文献标识码: A

红螺菌是光合细菌的重要成员。它们分布在海洋、湖泊、池塘水体和底泥以及稻田、污水处理系统等许多类型的生境中, 在这样的水层通常是光照不足的水层。因此, 自然条件下, 光合细菌通常还受到光照条件的限制, 光照是光合细菌获得能量的重要途径。研究光合细菌对饥饿环境的适应以及在饥饿环境中的活性对于理解它们在生态系统能量转化和物质循环中的贡献, 具有重要的意义。

国内徐怀恕等首先报道了霍乱弧菌等致病菌的活的非可培养状态, 通过活的非可培养状态, 它们可以渡过不利的环境条件^[1,2]。国外, Morita 指出, 自然界细菌的生长和存活通常受环境营养物质的限制而处于

* 现在地址: 1050 G. R. Desjardins Dept., Pavillion Vachon, Univ. Laval, Quebec, Canada G1K 7P4.

饥饿存活状态^[3~5]。细菌的饥饿存活是指细菌在缺乏产能基质的环境中存活的过程。关于细菌的饥饿存活,作者有综述^[6]。而光合细菌包括红螺菌的饥饿存活尚未见报道。为此,本实验就红螺菌在饥饿环境中的适应能力、饥饿存活红螺菌的休眠现象及休眠细菌的复苏过程进行了研究。

1 材料和方法

1.1 菌种来源及培养

本试验所用的菌株 *Rhodospirillum* sp. 从一已知菌种组成的活菌制剂中通过富集培养分离得到的。将分离得到的单菌落扩大后用于各试验。菌种富集、培养所用的培养基为红螺菌富集培养基^[7],其组成如下:无水乙酸钠;1.0g;KH₂PO₄;0.5g;NaCl;0.4g;NH₄Cl;0.4g;MgSO₄·7H₂O;0.2g;酵母提取物;0.2g;CaCl₂·2H₂O;0.05g;柠檬酸铁溶液;5.0ml;痕量元素溶液(SL-7)1.0ml;V_{B12}溶液;10ml;pH;7.3+0.2;蒸馏水;1L。其中柠檬酸铁水溶液;0.1g/100ml;V_{B12}溶液;10mg/100ml;SL-7 溶液组成如下(每升水中加入量):Co-Cl₂·6H₂O;0.2g;MnCl₂·4H₂O;0.1g;ZnCl₂;0.07g;H₃BO₃;0.06g;NaMoO₄·2H₂O;0.04g;CuCl₂·2H₂O;0.02g;NiCl₂·6H₂O;0.02g;HCl(25%);1.01ml。饥饿培养基为富集培养基中去除碳源、氮源后所得到的培养基,其组成如下:NaCl;0.4g;MgSO₄·7H₂O;0.2g;CaCl₂·2H₂O;0.05g;柠檬酸铁溶液(同上);5.0ml;SL-7 溶液(同上);1.0ml;V_{B12}1.0ml。用浓度为 10mM,pH 为 7 的磷酸缓冲溶液稀释至 1 升。

1.2 不同生长阶段红螺菌的饥饿存活

试验从 11 月 3 日开始,向体积为 1250ml 的三角烧瓶中接入 100ml 菌液(浓度约为 10⁸cells/ml)再用新鲜富集培养基加满,用橡皮塞密塞,不留气泡,创造厌氧环境。试验菌液培养在光照强度(白炽灯光源)为 900lx;温度为 28℃ 的恒温培养箱中。实验共设 3 个重复。分别于 11 月 6 日(Phase I)、11 月 9 日(Phase II)、11 月 13 日(Phase III)、和 11 月 20 日(Phase IV)从实验三角烧瓶中取出 30ml 菌液,用孔径为 0.2μm 的聚碳酸酯(Polycarbonate)核孔膜过滤,去除滤液,将滤膜上的细菌转入饥饿培养基中密闭遮光培养,培养温度为 28℃。在饥饿培养过程中,定期取样测总菌数和可培养活菌数(CFU)。

1.3 生长

实验开始时,量取 20ml 红螺菌菌液(密度约为 10⁸cells/ml)于总容积为 1230ml 的三角烧瓶中,并用新鲜红螺菌富集培养基加满,创造厌氧环境。用荧光显微镜直接计数测得其中初始总菌数为 6.80×10⁶cells/ml。用 40W 白炽灯作为光源,光照强度为 1000lx。接种后每隔 1~2d 取样测定总菌数和 CFU 的数量变动。

1.4 非可培养细菌的复苏培养

生长实验结束后,细菌进入非可培养状态,将此菌液分成 3 组,在体积为 30ml 的试管中进行复苏培养。第 1 组为饥饿组(starvation);将菌液用 0.2μm 滤膜过滤,去除原培养基后,将滤膜上的细菌洗入饥饿培养基中,用黑色胶带包裹遮光培养;第 2 组用稀释培养基复苏培养(dilution);将菌液用 0.2μm 滤膜过滤去除原培养基后,将滤膜上的细菌洗入稀释营养培养基中。稀释营养培养基组分与富集培养基相同,只是前者浓度为后者的 40%。第 3 组在原培养基中直接加入试管体积 1/10 的浓缩 4 倍后的富集培养基,进行复苏培养(spent-dilution)。加入 Spent-dilution 组中营养物质的最终浓度与 Dilution 组相等,仅 Spent-dilution 组中保留了原培养基中可能存在的各种代谢产物。

菌液密闭培养在 30ml 的刻度试管中。Starvation 组在黑暗饥饿状态下培养,作为对照。其它两组在微弱光照(光照强度为 150lx)下培养。培养温度设置在 28±0.5℃,培养过程中每隔约 24h 取样测定总菌数和 CFU 的数量变化。所有试验设 3 个重复。用方差分析法检验处理效应的显著性,对处理效应达显著水平的再进一步用 Duncan 多范围法作多重比较^[8]。

1.5 总菌数和 CFU 的计数

测定总菌数的样品用 3.6%(最终浓度)福尔马林固定后用荧光显微镜(NIKON OPTIPHOT-2)直接计数(AODC)^[9]。CFU 的测定用连续稀释平板涂布法。平板培养基组成与前述富集培养基相同,加入 1.5% 琼脂作为固化剂,平板在 28℃ 黑暗好氧条件下培养至少 1 周以后计菌落数。

1.6 所有器皿及培养基等均在 121℃ 下高压灭菌 20min 后使用,所有操作均在无菌条件下进行。

2 结果

2.1 不同生长阶段红螺菌的饥饿存活

Phase I、Phase II、Phase III 取样时,总菌数密度分别为 5.83×10^7 cells/ml、 4.12×10^8 cells/ml、 4.48×10^8 cells/ml 和 5.58×10^8 cells/ml。Phase I 为接种后第 4 天,培养液颜色刚由黄向红转变,此时菌群处于对数生长期。Phase II 为 Phase I 取样后 3d,培养物呈红色,细胞密度已达到 10^8 cells/ml,此时为对数生长末期。Phase III 和 Phase IV 在细胞密度上无大的变化,此时已先后进入静止生长期。

细菌转入饥饿培养基后总菌数和 CFU 的变化如图 1 所示。Phase I 细菌移至饥饿培养基后总菌数和 CFU 仍在增加。总菌数至第 11 天后不再增加,CFU 至第 11 天后达到最高峰(5.98×10^7 cells/ml),随后又开始下降。至第 68 天后稳定在 10^6 cells/ml 的水平。

Phase II 的细菌在饥饿培养基中,总菌数一直稳定在 10^8 cells/ml。CFU 在开始的 28d 内稳定在 10^7 cells/ml。43 天后 CFU 下降至 10^6 cells/ml,直至实验结束。

Phase III 细菌在饥饿培养基中,总菌数一直保持在 10^8 cells/ml 的水平。Phase III 细菌涂布到平板上培养 2 周后未出现菌落,然而在饥饿条件下培养 4d 后 CFU 竟上升到 10^7 cells/ml。这一水平持续了 3 周,此后开始下降,至第 48 天后降至 10^6 cells/ml,直到实验结束。

Phase IV 细菌转入饥饿培养基后,总菌数一直稳定在 10^8 cells/ml。Phase IV 的细菌涂布到平板培养基上后与 Phase III 一样,也未能形成菌落,然而在饥饿条件下培养 3d 后,CFU 却达到 10^7 cells/ml。从第 10 天至第 24 天之间 CFU 有所下降,但随后一直稳定在 10^7 cells/ml。

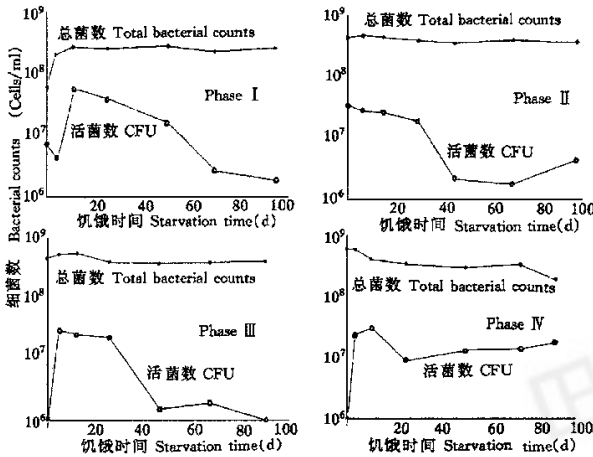


图 1 红螺菌在饥饿培养过程中总菌数和活菌数随时间的变化
Fig. 1 Variations of the total bacterial counts and CFU of *Rhodospirillum* sp. in the starvation batch culture

2.2 红螺菌的生长过程

红螺菌在富集培养基中的生长如图 2 所示。接入富集培养基时的总菌数为 10^6 cells/ml。由于红螺菌原液已培养较长时间,细菌未能在平板上形成菌落,即呈非可培养状态,2d 后 CFU 和总菌数均开始上升,CFU 增长至 10^7 cells/ml 后不再增长,随后开始下降,到第 13 天后细菌又进入非可培养状态,未能在平板培养基上形成菌落。

红螺菌在生长过程中,总菌数的数量变动与 CFU 的有较大差异。总菌数随培养时间延长而持续增加,直到第 11 天后不再增加。

2.3 静止生长期非可培养细菌的复苏培养

静止生长期以后,红螺菌进入非可培养状态,它们在不同条件下进行复苏培养时,除 Starvation 组的 CFU 无明显增加外,Dilution

组和 Spent-dilution 组 CFU 随时间延长而明显增加,而总菌数保持不变(图 3)。30h 后,3 组间 CFU 出现差异。用方差分析及 Duncan 多范围多重比较显示,它们的差异达到显著或极显著水平。

从图 3 可以看出,Starvation 组几乎未能恢复至可培养状态,而 Dilution 组中恢复水平最高。Spent-dilution 组的恢复水平低于 Dilution 组,组间差异均达到显著($p < 0.05$)或极显著水平($p < 0.01$),第 124h 的组间差异虽然未达到显著水平,但接近显著水平。

3 讨论

3.1 关于红螺菌的培养计数

在野外对光合细菌中的紫色非硫细菌进行活菌计数时,国内多采用最小可能数法(MPN)^[10-11]。但普遍认为 MPN 法的精确性较差,且费时费力^[12]。steffert 等^[13]在光合细菌活菌计数时用 H₂ 和 CO₂ 制造厌氧环境,用 3000 瓦光源,在厌氧光照培养条件下进行平板培养后,再作菌落计数。本研究限于实验条件未能用厌氧光照培养。根据紫色非硫细菌在黑暗、好氧条件下可以生长的特点^[14],选择黑暗好氧条件

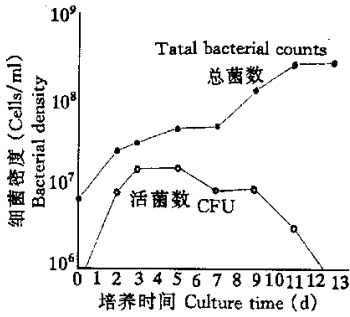


图2 红螺菌在富集培养基中的生长过程中总菌数和活菌数随时间的变化
Fig. 2 Variations of the total bacterial counts and CFU of *Rhodospirillum* sp. in the enrichment culture.

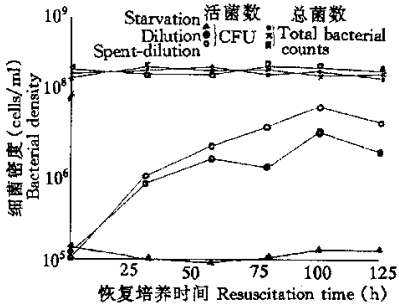


图3 静止生长期红螺菌在恢复培养过程中活菌数和总菌数随时间的变化
Fig. 3 Variations of the total bacterial counts and CFU of *Rhodospirillum* sp. in the resuscitation culture

在饥饿培养过程中,CFU 逐渐减少,但总菌数基本保持恒定的水平,这表明因为部分细菌在饥饿条件下进入非可培养状态^[20,21]。按 Kaprelyants 等,经复苏培养后,才能在固体培养基上形成菌落的细菌称为休眠细菌,而在任何条件下均不能进行细胞分裂并在平板上形成菌落者,称为死亡细菌^[22]。在这里,还没有充分的证据表明不可培养的那部分细菌是死细菌(dead bacteria)还是活的休眠细菌。确认细菌的死活尚需用荧光显微镜直接观察呼吸链的活性。由于受荧光染料供应的限制,本实验未能进行活细菌直接观察,但用复苏培养实验可能间接区分非可培养细菌是活的休眠细菌,还是已经死亡的细菌(见后面的讨论)。

Phase III 和 Phase IV 细菌总数达 10^8 cells/ml,但不能在平板上形成菌落,估计 $CFU < 10^4$ cells/ml,细菌已进入非可培养状态。但在饥饿培养基中培养 5d (Phase III) 和 3d (Phase IV) 后 CFU 均达到 10^7 cells/ml。这有两种可能:①是 Phase III 和 Phase IV 的细菌大部分已经死亡,少数幸存的活细菌利用死亡细菌释放出的营养物质繁殖形成 CFU。若是如此,总菌数和 CFU 应同时增加,但在实验中 CFU 增加时总菌数并没有变化。再者,在饥饿条件下 3~5d 内细菌密度从 10^4 cells/ml 上升至 10^7 cells/ml 是不大可能的,因为在生长实验中,用富集培养基培养时,细菌密度从 10^6 cells/ml 增长到 10^7 cells/ml 也需要 6d 时间(见结果部分)。②当细菌生长到对数中期和 Phase IV 时,培养物中积累了某种生化物质,诱导细菌进入休眠状态,因而不能在固体培养基上形成菌落。一旦去除了这种抑制物质后,细菌便又恢复在固体培养基上形成菌落的能力。

进行培养计数。用此法培养得到的菌落挑取到液体培养基中进行厌氧光照培养后能形成红色菌液,用显微镜镜检查显示单纯的红螺菌。

3.2 关于不同生长阶段红螺菌的饥饿存活

Phase I 细菌是处于对数生长期的细菌,它们在转入饥饿培养基后总菌数和 CFU 仍然上升,表明 Phase I 细菌利用对数生长期积累的储存物质继续进行细胞分裂。Stokes & Parson 用葡萄糖作碳源培养 *Sphaerotilus dis-cophorus* 时发现处于指数增长期的细菌体内积累 PHB (poly- β -hydroxybutyrate)^[15]。

Phase I ~ Phase III 在开始一个月的饥饿培养期间,均能保持良好的存活,CFU 保持在 10^7 cells/ml,随后均下降到 10^6 cells/ml。但这一水平一直可以保持到实验结束(图 1a ~ c)。Moyer and Morita 研究弧菌的饥饿存活时发现在饥饿培养 14d 后 CFU 从 10^7 cells/ml 开始下降,但到第 70 天后均稳定在 10^5 cells/ml^[16],这与本研究相似。

然而 Phase IV 的细菌在饥饿培养一个月后尽管 CFU 有所下降,但此后一直在 10^7 cells/ml,与 Phase I ~ Phase III 相比,显示较好的存活能力。Nystrom 等用二维电泳分析表明 *Vibrio* 在开始进入饥饿环境时,即合成饥饿细菌所特有的蛋白质,即饥饿蛋白质^[17]。如用抗生素抑制这些蛋白质的合成,细菌无法在饥饿培养基中成活。合成饥饿蛋白质是细菌为适应饥饿环境所作的必要的细胞重组组织过程^[18]。细菌在静止生长期后,约经历 1 星期后才能完成饥饿存活所需的所有饥饿蛋白质的合成^[19]。Kolter 等指出细菌在饥饿环境中保持最大存活能力所需的饥饿蛋白质是在进入静止生长期以后合成的^[18]。因此,Phase IV 细菌能显示较好的存活能力可能与此时期细菌完善了饥饿存活所需的适应机制的调整有关。

说明了,为什么当细菌培养液经过滤去除原培养液并转入新鲜饥饿培养基后,CFU在几天内得到了恢复,而总菌数并没有随CFU的增加而增加。这一现象在生长实验和非可培养实验中也得到了证实。

3.3 红螺菌的生长、休眠和复苏

细菌的种群增长通常经历了从延滞期开始直到衰亡期为止的过程。这一过程过去主要以CFU的变化来描述。在发表的文献中很少将总菌数和CFU在生长过程中的变化过程同时给出。

通常在细菌生长后期,进入静止生长期被解释为由于营养物质的枯竭和代谢产物的积累导致细菌的增长与死亡相平衡,细菌数开始下降被解释为细菌群体的死亡大于生长。但最近的研究表明,一些不能形成休眠孢子的细菌在静止生长期以后,由于营养和能源物质耗尽,代谢活性降低,也能进入休眠状态^[18,23]。进入休眠状态后的细菌也不能直接在固体培养基上形成菌落^[22,24]。

本实验中,红螺菌种群生长到第5天后,CFU不再上升,随后即开始下降,但总菌数仍在增加。至第13天时,总菌数不再增加,CFU下降至检测下限,各稀释梯度的平板上无菌落形成,群体中越来越多的细胞进入非可培养状态。在复苏培养实验中,在相邻24h间隔内Dilution组和Spent-dilution组CFU增加而总菌数一直保持不变(图3),即红螺菌进入静止生长期后,进入非可培养状态的红螺菌并没有死亡,而是进入休眠状态。休眠细菌遇到适宜营养条件后,从非可培养状态恢复成可培养状态^[24,25]。

细菌从活跃生长状态转变成成为休眠状态,一方面是生长到后期,营养物质枯竭代谢活性降低而引起的;另一方面,在其生长过程中,向培养液中排出的某些生化物质也有可能诱导细菌进入休眠状态^[23]。Dilution组在加入新鲜培养基(40%富集培养基)之前,先用0.2μm滤膜过滤去除老培养液,而Spent-dilution组中则保留原培养液体积1/10,但已浓缩4倍的富集培养基,所以,加入的新鲜培养基的最终浓度与Dilution组的相同,也是富集培养基的40%。两组在同样条件下进行复苏培养时,Spent-dilution组中恢复得到的CFU显著低于Dilution组,这证明Spent-dilution组中休眠细菌的复苏受到生长过程中积累在原培养液中的某一种或几种生化成分的抑制。Kaprelyants等和Votyakova等证实细菌的休眠与复苏受细菌向培养基中分泌的信息素控制^[24,25]。Reush & Sadoff报道*Azotobacter vinelandii*生长过程中,向培养基中分泌间苯二酚(resorcinol)类化合物,导致细菌进入休眠状态^[26]。这与Phase III和Phase IV和细菌在固体培养基上不能形成菌落,而转移到新鲜的饥饿培养基中后,反而能在固体培养基上形成菌落的现象是一致的。导致红螺菌进入休眠状态的诱导物质成分尚待今后进一步分析鉴定。

3.4 光合细菌饥饿存活研究的意义

大量资料表明,光合细菌具有净化水质的能力,它在水体中的存活无疑将是它在水中能否发挥功效的决定因素。本研究结果显示光合细菌红螺菌与其它细菌一样在静止生长期以后更能忍受饥饿环境。饥饿存活细菌通过交叉保护作用,更能在逆境中存活^[27,28]。红螺菌在特定饥饿环境中可以进入休眠状态,这种休眠细菌遇到适宜营养环境可以恢复活力,这可以部分地解释,为什么能在诸多环境中富集出光合细菌的原因。光合细菌是一类相对古老的细菌,它能在各种环境中适应生存,也得益于它对不利环境条件的适应能力。同时,红螺菌的饥饿存活为活菌制剂开发过程中延长保质期提供了理论依据。

4 结论

4.1 本研究显示不同生长阶段红螺菌在饥饿培养基中均能存活较长时间,表明红螺菌具有一定的饥饿存活能力;处于不同阶段的红螺菌在饥饿条件下的存活能力也不相同。经历较长静止生长期后(Phase IV),红螺菌完善了抵抗饥饿环境的机制,更有利于它的长期饥饿存活。

4.2 红螺菌进入静止增长后期后,可培养活菌数开始下降,进入非可培养状态,它们在适当条件下可以恢复成为可培养状态,证实了静止生长期后的红螺菌进入休眠状态。

4.3 休眠细菌的恢复培养实验表明,红螺菌进入休眠状态是生长后期营养枯竭引起的,同时生长过程中细菌自身向其周围介质中排出的生化物质也参与诱导细菌进入休眠状态。

- marine environment. *Microb. Ecol.*, 1982, **8**:313~323.
- [2] 徐怀恕, Cowell R R. 霍乱弧菌的越冬方式——活的非可培养状态及其检测方法. 青岛海洋大学学报, 1989, **19**(2):77~83.
- [3] Morita R Y. Starvation-survival of heterotrophs in the marine environment. *Advances in Microb. Ecol.*, 1982, **6**:171~178.
- [4] Morita R Y. Bioavailability and its relationship to growth and starvation survival in nature. *Can. J. Microbiol.*, 1988, **34**:436~441.
- [5] Morita R Y. The starvation-survival state of microorganism in nature and its relationship to the bioavailable energy. *Experientia*, 1990, **46**:813~817.
- [6] 梅志平, 章宗涉. 细菌饥饿存活研究进展. 微生物学通报, 1998, **25**:175~178.
- [7] Atlas R N. *Handbook of microbiological media*. Parks L C., ed. CRC Press, Inc. Boca Raton, 1993.
- [8] 杜荣骞. 生物统计学. 北京: 高等教育出版社, 1985.
- [9] 门田元, 多贺信夫编. 海洋微生物研究法. 东京: 学会出版ヒソター, 1985, 33~40.
- [10] 张 欣. 池塘中紫色非硫细菌的数量及其与浮游动物关系的探讨. 淡水渔业, 1987, (4):16~18.
- [11] 李 虹, 李勤生. 武汉东湖紫色非硫细菌的生态学研究. 见: 刘建康主编. 东湖生态学研究(二). 北京: 科学出版社, 1990, 260~277.
- [12] Atlas R M & Bartha R. *Microbial Ecology* (2nd ed.). Benjamin/Cummings Publishins company, Inc., 1987, p. 212.
- [13] Steffert E, Irgens R L & Pfennig. Phototrophic purple and green bacteria in a sewage treatment plant. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1978, **35**(1):38~44.
- [14] 刘如林, 刁虎欣, 梁凤来, 等编著. 光合细菌及其应用. 北京: 中国农业科技出版社, 1991. 3
- [15] Stokes J L & Parson W L. Role of poly- β -hydroxybutyrate in survival of *Sphaerotilus discophorus* during starvation. *Can. J. Microbiol.* 1968, **14**:785~789.
- [16] Moyer C L, Morita R Y. Effects of growth rate and starvation-survival on the viability and stability of a psychrophilic marine bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.* 1989, **55**(5):1122~1127.
- [17] Nystrom T, Flardh K & Kjelleberg S. Responses to multiple nutrient starvation in marine *Vibrio* sp. Strain CCUG 15956. *J. Bacteriol.* 1990, **172**(12):7058~7092.
- [18] Kolter R, Siegele D A, Tormo A. The stationary phase of the bacterial life cycle. *Ann. Rev. Microbiol.* 1993, **17**:855~874.
- [19] Morton D S & Oliver J D. Induction of carbon starvation-induced proteins in *Vibrio vulnificus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1994, **60**(10):3653~3659.
- [20] Roszak D B, Colwell R R. Survival strategies of bacteria in the natural environment. *Microbiol. Rev.* 1987, **51**(3):365~379.
- [21] 纪伟尚, 许 兵, 徐怀恕. 细菌的活的非可培养状态. 微生物学通报, 1990, **17**:362~3196.
- [22] Kaprelyants A S, Kell D B. Dormancy in stationary-phase cultures of *Micrococcus luteus*: flow cytometric analysis of starvation and resuscitation. *Appl. Environ. Microbiol.* 1993, **59**(10):3187~3196.
- [23] Siegele D A & Kolter R. Life after log. *J. Bacteriol.* 1992, **174**(2):345~348.
- [24] Kaprelyants A S, Gottschal J C & Kell D B. Dormancy in nonsporulating bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 1993, **104**:271~286.
- [25] Votyakova T V, Kaprelyants A S & Kell D S. Influence of viable cells on the resuscitation of dormant cells in *Micrococcus luteus* cultures held in an extended stationary phase: The population effects. *Appl. Environ. Microbiol.* 1994, **60**(9):3284~3291.
- [26] Reusch R N & Sadoff H L. 5-nalkyresorcinols from encysting *Azotobacter winelandii*: isolation and characterization. *J. Bacteriol.* 1979, **139**(2):448~453.
- [27] Hartke A, Bouche S, Gansel X, et al. Starvation-induced stress resistance in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IL1403. *Appl. Environ. Microbiol.* 1994, **60**(9):3475~3478.
- [28] Nystrom T, Kjelleberg S. Role of protein synthesis in the cell division and starvation-induced protein resistance to autolysis of a marine *Vibrio* during the initial phase of starvation. *J. Gen. Microbiol.* 1989, **135**:1599~1606.