

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
55 (9):1089 – 1096; 4 September 2015
ISSN 0001 – 6209; CN 11 – 1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>
doi:10.13343/j.cnki.wsxb.20140582

微生物共培养技术的研究进展

徐德阳, 王莉莉, 杜春梅*

黑龙江大学, 微生物学黑龙江省高校重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150080

摘要: 本文对微生物共培养的发展历史及其在食品、农业、工业及污水净化等方面的应用进行了综述, 并对已知的共培养微生物之间的生态学关系进行了总结。人们利用微生物联合共培养、序列共培养和共固定化细胞混菌培养等技术来获得新的代谢产物, 提高产量, 改造传统发酵工业, 生产能源物质, 提高底物利用率, 扩大底物范围, 降解有毒物质。共培养微生物之间可能具有协同代谢作用、诱导作用、种间群体感应、基因转移等多种生态学关系。对共培养微生物之间的微生态机理进行深入系统的研究, 有助于充分发挥共培养技术的应用潜力。

关键词: 微生物, 共培养, 混合发酵, 代谢产物, 应用

中图分类号: Q93-3 **文章编号:** 0001-6209 (2015) 09-1089-08

人们对微生物的利用经历了天然混合培养、纯培养到有目的的混合培养(共培养)阶段。那些承袭了百年甚至千年的天然传统发酵工艺(天然混合培养)的食品和酒类, 如今依然被人们所钟爱^[1]。而在 18 世纪 70 年代发展起来的纯培养技术, 不但促进了医学的极大发展, 也推动了生命科学的迅速发展, 并且在工农业领域得到了广泛的应用。虽然早在 1925 年 Sack 就描述了亚硝化单胞菌(*Nitrosomonas* sp.) 和生丝微菌(*Hyphomicroblum* sp.) 在硅胶培养基中共培养, 不同的组合关系可以形成不同的产物, 但一直没有得到足够的重视, 直到近几十年来, 人们逐渐发现有一些生化过程需要两种以上的微生物才能进行, 有一些物质需要多种微生物共同培养才能产生, 因此微生物共培养(Co-culture)成为工业、农业、医药、食品及环保等领域的热点问题, 而且已经成为提高产量或者发现新物质

的重要方法。

Johannes Bader 认为共培养是指在无菌条件下, 一些特别指定的不同的微生物在厌氧或好氧条件下的混合培养。这个概念使得今天的共培养同已往的天然混菌培养有了本质的区别^[2-3], 它着重强调共培养是人们有目的有意识地利用高通量技术和生物信息平台挖掘新的活性物质和提高产量的手段^[4]。而天然混合培养(混菌培养 mixed-culture, 或称混菌发酵 mixed-fermentation)往往是指在自然条件下, 不同的微生物在厌氧或好氧条件下共同培养, 有时这些微生物是未知的, 非特定的, 天然混合培养甚至会在腐败条件下进行^[5]。目前的科学论文并没有将共培养与混合培养进行有效的区分, 因此本文中有时会提到混菌发酵和混菌培养等名词, 但是和共培养的意思相等同。

基金项目: 国家自然科学基金(31370511); 黑龙江省自然科学基金(C201203)

* 通信作者。E-mail: duchunmei1972@sohu.com

作者简介: 徐德阳(1989-), 男, 黑龙江人, 硕士研究生, 微生物资源挖掘与利用。E-mail: xudeyanggood@163.com

收稿日期: 2014-12-05; **修回日期:** 2015-01-12

1 共培养微生物之间的生态学关系

微生物之间的生态学关系非常复杂。在自然状态下,生长在同一环境下的微生物之间不仅有营养上的相互竞争,还有分泌到胞外的代谢产物之间的相互影响。在共培养状态下,微生物之间的协同代谢、互惠共生、相互竞争、代谢物中的信号分子、抗生物质、毒素等的相互作用都对共培养体系中目标产物的产量和新物质的产生有影响。

1.1 协同代谢作用

共培养微生物之间的碳、氮、核酸及铁离子的代谢往往存在协同作用^[6]。它们分工合作,通过各自的代谢活动而有利于各方或偏利于一方^[7],为彼此提供营养,扩大微生物对底物的利用范围、控制发酵体系 pH 值^[8]、转移或消除有毒的抑制产物^[9-10],从而达到提高产量的目的。有些甚至形成独特结构,相依为命。

1.2 诱导作用

诱导共培养是指在纯培养体系中人为地引入种间竞争压力,在提高抗生物质的产量方面比较常用。基因组学研究表明,某些微生物控制次级代谢产物的基因在实验室条件下不表达或痕量表达,当进行共培养时,体系中与其亲缘关系较近的或其它种类的微生物会诱导这些基因表达或大量表达^[11-13],这种作用实际上与信号分子和种间群体感应有关。如芽孢杆菌在生存竞争选择压力下会产生大量的细菌素^[14]。Slattery 等^[13]发现有 12 种海洋细菌可以诱导海洋链霉菌 (*Streptomyces tenjimariensis*) 产生 istamycin 的产量显著提高。美国加州大学圣地亚哥分校海洋生物技术与医学中心的研究小组利用诱导共培养方式分离到了 PEstalones、Libertellenones A-D、Emericellamides A-B 等在纯培养条件下不曾得到的新化合物^[15]。

1.3 种间群体感应

种间群体感应是在竞争环境下感受外源微生物释放的种间信号分子而表现出一定的生理现象,如产生新的抗生物质或提高已有物质的产量,这些现象通常与群体的数量有相关性^[16-17]。已知的种间信号分子有呋喃硼酸二酯^[18]、细菌的肽聚糖^[19]和 DNA 等。郭秀春等^[16]发现海绵共栖细菌

(*Pseudoalteromonas* sp.) NJ6-3-1 产生抗菌物质的行为与自身群体密度密切相关;而当与 *Staphylococcus aureus* 共培养时,*S. aureus* 分泌的某种信号分子能诱导 NJ6-3-1 在低密度时产生抗菌物质,即 NJ6-3-1 产生抗菌物质受到种间信号分子和群体感应的调控。我们的研究发现侧孢短芽孢杆菌 (*Brevibacillus laterosporus*) BL-21 产生抗菌物质与其自身菌体数量密切相关,但是当与枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) HNDF2 共培养时,在竞争环境下,优势菌 BL-21 能在较低群体密度下产生更强的抗菌活性,这可能与 HNDF2 释放的某种种间信号有关,但是这些信号分子是革兰氏阳性菌的肽聚糖,还是分泌到胞外的某种小分子物质还需要深入研究。

1.4 基因转移

基因转移是一种普遍的自然现象,在一定条件下某些抗生素基因能够在不同的细胞间产生横向转移^[20]。人们利用这种现象,通过共培养的方式让某些微生物在自然生长状态下获得多种优势,如既具有生长优势,又具有生产某种新的抗生素的特点。Kurosawa 等^[21]通过共培养的方式使稠李链霉菌 (*Streptomyces padanus*) 的相关抗生素基因转移到缠绕红球菌 (*Rhodococcus fascians*) 中并表达,产生新的抗生素 Rhodostreptomycin A 和 B。

2 共培养的方式

目前,微生物共培养通常以直接共培养和共固定化混菌培养两种方式为主^[22-23]。

2.1 直接共培养

直接共培养是指在合适的条件和环境下,将两种或两种以上的细胞按照一定的比例,同时或先后在同一培养体系中共同培养的过程^[22],可分为联合共培养及序列共培养。

2.1.1 联合共培养:联合共培养是指将两种或两种以上的微生物同时接种到同一体系中进行培养,是最常见的共培养方式。这种培养方式中,各微生物间的代谢关系复杂,常伴随协同代谢、群体感应、信号转导、基因转移等多种微生态关系,但是其中某一两种关系处于主导地位。目前在改造传统酿造工业和挖掘抗生物质资源中应用较多,可以达到改良产品质量和发现新物质的目的^[20,24]。

2.1.2 序列共培养:能够序列共培养的微生物之间往往具有协同代谢关系。在实际生产中,根据微生物对底物的利用能力不同,按先后顺序接种并培养。既能充分发挥微生物间的协同代谢效应,又可以避免微生物间的生长竞争和抑制,从而获得更高的生物量和产率。维生素 C 的生产是序列混菌培养的典例,辅助菌 *B. megaterium* 和 *B. cereus* 促进了古龙酸菌 (*Ketogulonigenium vulgare*) 的生长,提高了 2-酮基-L-古龙酸的产量^[7,25]。序列共培养在染料的脱色^[26]、酵母的生产发酵等^[27] 方面也有报道。

2.2 共固定化细胞混菌培养

共固定化细胞混菌培养通常是指利用共固定化生物技术将各单菌制成固定化细胞,再混在一起^[23]。这种培养模式的优点与间接共培养相同,可以避免微生物直接接触,既能解除微生物间的生长抑制现象,又能充分发挥各微生物代谢物之间的信息传递,从而发挥最大的应用效能,提高产品的品质和产率。目前,这种技术在生产果醋^[28-29]、乙醇^[30]的工艺中应用较多,在微生物除油方面也有应用潜力^[31]。有些研究也会把天然混合状态的微生物进行固定化,这种方式还不多见。

2.3 间接共培养

间接共培养是指不同的微生物的细胞不直接接触,而是置于不同的载体上,在同一环境和体系中培养^[32]。虽然在实际应用中,这种方式没有被广泛的采用,但是间接共培养对于理论研究而言,是一种非常好的方式,它有利于我们研究微生物代谢产物对相互的刺激或抑制作用,对于揭示种间的协同代谢、群体感应现象和信号分子有重要的意义。

3 微生物共培养的应用

由于共培养技术能够获得某些纯培养技术无法获得的产物及有效的提高产率和转化率的优点^[33],近年来已在食品、工业、农业、医药和环保等领域得到广泛应用。

3.1 改造传统发酵工艺

利用不同种属的微生物共培养来缩短发酵周期和改善产品质量,已应用于传统发酵工业的改造。在泡菜的生产过程中应用戊糖乳杆菌 (*Lactohacillus pentosus*) 和肠膜明串珠菌 (*Leuconostoc mesenteroides*)

共培养方式,降低了泡菜中腐败菌的数量和亚硝酸盐的浓度,改良了产品风味^[34]。李从虎等^[35] 利用乳酸菌和酵母菌共培养技术进行瓣酪发酵,增加了挥发性呈香组分的比例,改良了品质,缩短了发酵时间。在 Vc 的生产中,通过对共培养体系的改良,微生物的协同代谢作用被发挥到了极致,Vc 的产量得到大幅度提高。

3.2 生产生物能源

共培养微生物之间的协同代谢作用,在生产生物能源方面发挥了较大的优势和应用潜力。在提高底物利用率、扩大底物范围、提高产量方面效能显著。*Clostridium*、*Enterobacter* 和 *Escherichia* 等微生物纯培养产氢量很低,但是将要求严格厌氧条件的丁酸梭菌 (*C. butyricum*) 与兼性厌氧的产气肠杆菌 (*E. aerogenes*) 共培养时,*E. aerogenes* 可以消耗系统中的氧气从而创造出厌氧条件,可以不必添加还原剂就达到高产氢的目的^[36]。*C. butyricum* 与光合细菌 *Rhodospseudomonas* sp. 共培养,显著提高了氢的产率^[37]。将沃尔夫互营单胞菌嗜脂肪亚种 (*Synzyrophomonas wolfei* subsp. *saponavida*) 与甲酸甲烷杆菌 (*Methanobacterium formicium*) 共培养,可以直接利用巴豆酸产生甲烷,不必添加丁酸^[38]。利用运动发酵单胞菌 (*Zymomonas mobilis*) 和酵母共培养生产乙醇,产量和产率都明显提高^[39]。Szambelan 等以菊淀粉作为底物,利用 *Z. mobilis* 和脆壁克鲁维酵母 (*Kluyveromyces fragilis*) 共培养来生产乙醇,转化率达到理论最大值的 94%^[40]。利用 *B. subtilis* WD 161 和 *C. butyricum* TISTR 1032 共培养,提高了利用淀粉生产丙酮-丁醇-乙醇 (ABE) 的转化率和产量,促进了 ABE 工业化生产的发展^[41]。

3.3 提高抗生素产量和挖掘新的抗生物质

利用诱导共培养或协同代谢等原理来产生新的物质是微生物共培养技术的优势之一,尤其是在抗生物质资源的挖掘中日益受到关注。放线菌与枯草芽孢杆菌共培养时,产生了相同条件下单培养没有的抗肿瘤抗生素,且细胞毒性较小,为进一步筛选高效、低毒的抗肿瘤抗生素奠定了基础^[20]。Slattery 等^[13] 研究发现,当一种链霉菌属的菌株和不同种类的海洋细菌进行共培养时,产生了一种新的抗菌素,显示共培养发酵对于新抗菌素发现的重要性。Meyer 等^[42] 利用巨大曲霉 (*Aspergillus giganteus*) 和

尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*) 进行共培养时,发现抗真菌蛋白的产量得到显著地提高。我们对 *B. laterosporus* BL-21 与 *B. subtilis* HNDF2 的共培养液进行质谱分析,发现共培养液中存在单培养没有的抗菌物质,分子量分别为 1304.614 和 1292.730,电泳分析发现共培养液的图谱中出现单培养没有的蛋白条带(尚未发表)。

3.4 降解有毒物质

由于具有协同效应,微生物共培养在降解有毒物质和废物处理方面更加高效。Li YQ 等研究发现透明分支杆菌 (*Mycobacterium hyalinum*) 与枝孢菌 (*Cladosporium*) 同时使用时,对柴油的清除率达到 99%,显著高于各单菌处理^[43]。微生物混合培养可以提高对深蓝废水、中红废水^[44]、活性黑 5^[45] 的脱色率和降解率,解决了生物难以降解印染废水的问题。

4 微生物共培养存在的问题及发展前景

近几年,随着人们对微生态关系的积极探究和了解,微生物共培养的优势逐渐被人们所重视,并在工业、农业、食品制造及医药等诸多领域得到拓展和应用,但是仍然存在一些亟待解决的问题。如:(1) 序列共培养技术接种次数多,污染的概率较之纯培养高;(2) 各菌株对营养和环境的要求不同,难于人工干预控制;(3) 微生态关系复杂,容易受外界条件或营养条件的影响,导致产物产量或代谢产物结构的不稳定;(4) 共培养技术在制备生物菌肥和生物农药方面的应用有待提高;(5) 对共培养微生物之间的生态学关系的分子机理知之甚少,限制了共培养技术的发展。

针对上述问题,拟解决的办法有:

(1) 对于具有协同代谢关系或基因转移现象的微生物,在明确其代谢途径的基础上,可以利用分子生物学技术、细胞融合技术和基因工程等技术构建工程菌,改变微生物的代谢流或构建新的代谢途径,扩大其底物利用范围,提高其转化效率,使工程菌既具有共培养的功能,又拥有纯培养菌株营养要求单一、生理代谢稳定、易于调控等优点。

(2) 对于那些具有竞争关系或拮抗关系的微生物,利用间接共培养方式结合代谢组学和蛋白质组

学技术,深入研究微生物的种间群体感应现象,明确种间信号分子的化学结构及其与基因表达之间的关系,研究其对碳氮等物质代谢的影响,通过基因操作或人工合成或提取信号物质,来诱导或激发微生物合成新的代谢产物或提高产量的潜力。可以说,一方面,信号分子决定了共培养微生物之间的生态行为模式,另一方面共培养技术可以促使人们发现更多新的种间信号分子,从而推进微生物生态学的发展。

(3) 广泛挖掘可共培养的微生物,对不同微生物间的共培养组合方式进行研究和筛选,为拓展共培养的应用范围建立资源库,促进其在农业病虫害治理、新抗生素研发、环境治理等领域的应用,并对其生态学机理和代谢途径进行研究,为进一步解读共培养机理,阐明共培养微生物之间的生态学关系奠定基础。

(4) 对共培养微生物体系进行代谢流分析,有助于阐明微生物生态系统的代谢网络,能为发现和阐明微生物代谢特点、微生物间的相互协同作用关系提供宝贵的证据,有效地促进微生物代谢网络基础理论的发展^[46]。

目前,生产上应用的共培养菌株之间往往具有协同代谢作用或者诱导作用,而对互有拮抗或竞争作用的微生物间共培养现象的研究还很少。本实验室利用互有拮抗作用的 *B. laterosporus* BL-21 与 *B. subtilis* HNDF2 进行共培养时发现,共培养液的抗植物病原真菌的活性均好于这两株菌的纯培养液,处于弱势地位的 HNDF2 能够刺激优势菌 BL-21 产生更多甚至新的抗菌物质。高学文^[14] 的研究表明由于 *B. subtilis* 能产生多种抗菌物质,在与 *B. thuringiensis* 共培养时,*B. subtilis* 往往处于优势地位。这说明不同组合的共培养方式,其获得更多或新的抗菌物质的机理有所不同,各菌株之间能感受的种间信号分子与群体感应现象值得我们深入研究。我们将对 *B. laterosporus* BL-21 与 *B. subtilis* HNDF2 共培养抗菌活性增强的生态学机理和种间信号分子进行深入研究,从而为通过共培养方式挖掘新抗菌物质提供理论依据。

综上所述,对微生物共培养进行多尺度、多层次的研究,不仅具有深远的理论意义,更具有广泛的应用价值,能更多地造福人类,极具发展潜力。

参考文献

- [1] Holguin G, Bashan Y. Nitrogen-fixation by *Azospirillum brasilense* Cd is promoted when co-cultured with a mangrove rhizosphere bacterium. *Soil Biology and Biochemistry*, 1996, 28 (12) : 1651-1660.
- [2] Cueto M, Tanaka T. Clarification of interactions among microorganisms and development of co-culture system for production of useful substances. *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*, 2004, 90: 35-62.
- [3] Oliveira RPDS, Torres BR, Perego P, Oliveira MND, Converti A. Co-metabolic models of *Streptococcus thermophilus* in co-culture with *Lactobacillus bulgaricus* or *Lactobacillus acidophilus*. *Biochemical Engineering Journal*, 2012, 62:62-69.
- [4] Herve-Jimenez L, Guillaouard I, Guedon E, Boudebouze S, Hols P, Monnet V, Maguin E, Rul F. Postgenomic analysis of *Streptococcus thermophilus* cocultivated in milk with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*: involvement of nitrogen, purine, and iron metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75 (7) : 2062-2073.
- [5] Bader J, Mast-Gerlach E, Popović MK, Bajpai R, Stahl U. Relevance of microbial coculture fermentations in biotechnology. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 109(2) : 371-387.
- [6] Yan Z, Xu CX, Yan H, Wei W. Study on co-culture between *Rhodospseudomonas palustris* and *Chlorella* USTB-01. *Modern Chemical Industry*, 2009, 29 (2) : 172-175. (in Chinese)
闫震, 徐春霞, 闫海, 魏巍. 沼泽红假单胞菌与小球藻 USTB-01 的共培养研究. 现代化工, 2009, 29 (2) : 172-175.
- [7] Yin G. Current situation of vitamin C production technology and its development tendency. *Chinese Journal of Biotechnology*, 1986, 2(4) : 17. (in Chinese)
尹光琳. 维生素 C 生产技术的现状及发展趋势. 生物工程学报, 1986, 2(4) : 17.
- [8] Shimizu H, Mizuguchi T, Tanaka E, Shioya S. Nisin Production by a mixed-culture system consisting of *Lactococcus lactis* and *Kluyveromyces marxianus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65 (7) : 3134-3141.
- [9] Murray WD. Symbiotic relationship of *Bacteroides cellulosolvens* and *Clostridium saccharolyticum* in cellulose fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 1986, 51 (4) : 710-714.
- [10] Han M, Wang HD, Li XX, Wang Z, Wei R. Interaction effects of soybean *Rhizobium* and phospho-bacterium under mixed culture. *Journal of Microbiology*, 2013, 33 (3) : 27-29. (in Chinese)
韩梅, 王慧达, 李晓旭, 王卓, 魏冉. 大豆根瘤菌与磷细菌混合培养下的互作效应. 微生物学杂志, 2013, 33 (3) : 27-29.
- [11] Cui ZS, Zheng L, Yang BJ, Liu Q, Gao W, Han P, Wang SL, Zhou WJ, Zheng MG, Tian L. Synergic effect of marine obligate hydrocarbonoclastic bacteria in oil biodegradation. *Acta Microbiologica Sinica*, 2010, (50) 3: 350-359. (in Chinese)
崔志松, 郑立, 杨佰娟, 刘倩, 高伟, 韩平, 王绍良, 周文俊, 郑明刚, 田黎. 两种海洋专性解烃菌降解石油的协同效应. 微生物学报, 2010, 50 (3) : 350-359.
- [12] Pettit RK. Mixed fermentation for natural product drug discovery. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 83(1) : 19-25.
- [13] Slattery M, Rajbhandari I, Wesson K. Competition-mediated antibiotic induction in the marine bacterium *Streptomyces tenjimariensis*. *Microbial Ecology*, 2001, 41 (2) : 90-96.
- [14] Gao XW, Qi FJ, Yao SY, Wang JS. Co-culture of *Bacillus subtilis* and *Bacillus truringiensis* and its influence on production of bioactive substances. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2003, 26 (3) : 32-35. (in Chinese)
高学文, 齐放军, 姚仕义, 王金生. 枯草芽孢杆菌和苏云金芽孢杆菌的共培养及其对生物活性物质产生的影响. 南京农业大学学报, 2003, 26 (3) : 32-35.
- [15] Oh DC, Kauffman CA, Jensen PR, Fenical W. Induced production of emericellamides A and B from the marine-derived fungus *Emericella* sp. in competing co-culture. *Journal of Natural Products*, 2007, 70 (4) : 515-520.
- [16] Guo XC, Zheng L, Cui ZS, Han P, Tian L, Wang XR. Antibacterial activity of sponge associated marine bacterium *Pseudalteromonas* sp. NJ6-3-1 regulated by quorum sensing. *Acta Microbiologica Sinica*, 2008, 48 (4) : 545-550. (in Chinese)
郭秀春, 郑立, 崔志松, 韩平, 田黎, 王小如. 海绵共栖细菌 NJ6-3-1 基于群体感应调控的抗菌活性. 微生物学报, 2008, 48 (4) : 545-550.
- [17] Zhang HZ, Pan WB, Chen BH. Effects of the algicidal

- bacterial strain L7 on nitrogen metabolism of *Anabaena flos-aquae*. *Microbiology China*, 2012, 39 (8): 1198-1206. (in Chinese)
- 张涵之, 潘伟斌, 陈宝华. 溶藻细菌 L7 对水华鱼腥藻氮代谢的影响. *微生物学通报*, 2012, 39 (8): 1198-1206.
- [18] Federle MJ, Bassler BL. Interspecies communication in bacteria. *Journal of Clinical Investigation*, 2003, 112 (9): 1291-1299.
- [19] Karube I, Matsunaga T, Tsuru S, Suzuki S. Continuous hydrogen production by immobilized whole cells of *Clostridium butyricum*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1976, 444 (2): 338-343.
- [20] Huang B, Liu N, Huang Y, Chen JC. Co-culture of actinomycetes with *Bacillus subtilis* and its effect on the bioactive secondary metabolites. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2009, 25 (6): 932-940. (in Chinese)
- 黄兵, 刘宁, 黄英, 陈劲春. 放线菌与枯草芽孢杆菌的共培养及其对活性次生代谢产物的影响. *生物工程学报*, 2009, 25 (6): 932-940.
- [21] Kurosawa K, Ghiviriga I, Sambandan TG, Lessard PA, Barbara JE, Rha C, Sinskey AJ. Rhodostreptomycins, antibiotics biosynthesized following horizontal gene transfer from *Streptomyces padanus* to *Rhodococcus fascians*. *Journal of the American Chemical Society*, 2008, 130 (4): 1126-1127.
- [22] Zhang Q, Jin RM. Cell co-culture technique and its research progress. *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2011, 25 (3): 330-332. (in Chinese)
- 张茜, 金若敏. 细胞共培养技术的研究进展. *中国药理学与毒理学杂志*, 2011, 25 (3): 330-332.
- [23] Lin JE, Wang HY, Hickey RF. Use of coimmobilized biological systems to degrade toxic organic compounds. *Biotechnology and Bioengineering*, 1991, 38 (3): 273-279.
- [24] Ma Y, Chen LJ, Wang CL, Mu GQ, Chen XX. Study on the mixed cultivated properties of high exopolysacchride-producing *Streptococcus thermophilus*. *China Dairy Industry*, 2011, 39 (1): 15-48. (in Chinese)
- 马艳, 陈历俊, 王昌禄, 牟光庆, 陈晓璇. 高产胞外多糖嗜热链球菌混菌培养特性研究. *中国乳品工业*, 2011, 39 (1): 15-48.
- [25] Yang W, Han L, Wang Z, Xu H. Two-helper-strain co-culture system: a novel method for enhancement of 2-keto-l-gulonic acid production. *Biotechnology Letters*, 2013, 35 (11): 1853-1857.
- [26] Yang XQ, Wang JR, Zhao XX, Xue R. Decolorization of four dyes by a mixed culture of *Trametes* sp. SQ01 and *Chaetomium* sp. R01. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2011, 31 (3): 518-524. (in Chinese)
- 杨秀清, 王婧人, 赵晓霞, 薛瑞. *Trametes* sp. SQ01 和 *Chaetomium* sp. R01 混合培养对四种染料的脱色. *环境科学学报*, 2011, 31 (3): 518-524.
- [27] Tang J, Wang HY, Xu Y. Effect of mixed culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia anomala* on fermentation efficiency and flavor compounds in Chinese Liquor. *Microbiology China*, 2012, 39 (7): 921-930. (in Chinese)
- 唐洁, 王海燕, 徐岩. 酿酒酵母和异常毕赤酵母混菌发酵对白酒液态发酵效率和风味物质的影响. *微生物学通报*, 2012, 39 (7): 921-930.
- [28] Jiang H, Mingtao F. Influence of brewing method on quality of apple vinegar. *Agricultural Science and Technology*, 2012, 13 (8): 1754-1756, 1788.
- [29] Xiang XL, Huang T, Qian FY, Ma CJ. Study on production technology of Ponkan fruit vinegar by multi-microorganisms co-immobilization. *The Beverage Industry*, 2012, 15 (3): 26-31. (in Chinese)
- 向小乐, 黄婷, 钱富燕, 麻成金. 共固定化多菌种发酵槿柑果醋工艺研究. *饮料工业*, 2012, 15 (3): 26-31.
- [30] Lee WS, Chen IC, Chang CH, Yang SS. Bioethanol production from sweet potato by co-immobilization of saccharolytic molds and *Saccharomyces cerevisiae*. *Renewable Energy*, 2012, 39 (1): 216-222.
- [31] Li YH, Li YL, Xie QL, You SH, Zhao NJ, Zeng HH. Treatment of high salinity oil wastewater by immobilized microorganism technique. *Environmental Engineering*, 2012, 30 (1): 18-21. (in Chinese)
- 李艳红, 李英利, 解庆林, 游少鸿, 赵楠婕, 曾鸿鹄. 固定化混合菌处理高盐含油废水. *环境工程*, 2012, 30 (1): 18-21.
- [32] Luo Y, Sun GB, Qin M, Yao F, Sun XB. Application of cell co-culture techniques in medical studies. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2012, 37 (22): 3545-3549. (in Chinese)
- 罗云, 孙桂波, 秦蒙, 姚帆, 孙晓波. 细胞共培养技术在医药研究中的应用. *中国中药杂志*, 2012, 37 (22): 3545-3549.
- [33] Zhan DA. Fermentation with pure and mixed strains and traditional fermented food. *China Brewing*, 2010, 29 (9): 15-17. (in Chinese)

赵德安. 纯种发酵, 混合发酵与传统发酵食品. 中国酿造, 2010, 29 (9) : 15-17.

- [34] Yan PM, Xue WT, Tan SS, Zhang H, Chang XH. Effect of inoculating lactic acid bacteria starter cultures on the nitrite concentration of fermenting Chinese paocai. *Food Control*, 2008, 19 (1) : 50-55.
- [35] Li CH, Zheng J, Xie F, Chen X, Huang J, Zhou RQ. Studies on the enhancing Pixian horse-bean 1.08 with *Candida versatilis* SZ-1. *China Condiment*, 2010, 35 (3) : 66-70. (in Chinese)
- 李从虎, 郑佳, 谢菲, 陈欣, 黄钧, 周荣清. 基于泸酿 1.08 及 *Candida versatilis* SZ-1 的共培养技术强化郫县豆瓣酱发酵的研究. 中国调味品, 2010, 35 (3) : 66-70.
- [36] Yokoi H, Tokushige T, Hirose J, Hayashi S, Takasaki Y. H₂ production from starch by a mixed culture of *Clostridium butyricum* and *Enterobacter aerogenes*. *Biotechnology Letters*, 1998, 20 (2) : 143-147.
- [37] Miyake J, Mao XY, Kawamura S. Photoproduction of hydrogen from glucose by a co-culture of a photosynthetic bacterium and *Clostridium butyricum*. *Journal of Fermentation Technology*, 1984, 62 (6) : 531-535.
- [38] Cheng GS, Tu XH, Dong XZ, SU JJ. Isolation and reassociation of acetogen and methanogen in a syntrophic co-culture degrading butyrate anaerobically. *Acta Microbiologica Sinica*, 1995, 35 (6) : 442-449. (in Chinese)
- 程光胜, 屠雄海, 东秀珠, 苏京军. 厌氧降解丁酸共培养物中产氢产乙酸细菌与产甲烷细菌的分离与再组合. 微生物学报, 1995, 35 (6) : 442-449.
- [39] Abate C, Callieri D, Rodríguez E, Garro O. Ethanol production by a mixed culture of flocculent strains of *Zymomonas mobilis* and *Saccharomyces* sp.. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1996, 45 (5) : 580-583.
- [40] Szambelan K, Nowak J, Czarnecki Z. Use of *Zymomonas mobilis* and *Saccharomyces cerevisiae* mixed with *Kluyveromyces fragilis* for improved ethanol production from Jerusalem artichoke tubers. *Biotechnology Letters*, 2004, 26 (10) : 845-848.
- [41] Tran HTM, Cheirsilp B, Hodgson B, Umsakul K. Potential use of *Bacillus subtilis* in a co-culture with *Clostridium butylicum* for acetone-butanol-ethanol production from cassava starch. *Biochemical Engineering Journal*, 2010, 48 (2) : 260-267.
- [42] Meyer V, Stahl U. The influence of co-cultivation on expression of the antifungal protein in *Aspergillus giganteus*. *Journal of Basic Microbiology*, 2003, 43 (1) : 68-74.
- [43] Li YQ, Liu HF, Tian ZL, Zhu LH, Wu YH, Tang HQ. Diesel pollution biodegradation: synergetic effect of *mycobacterium* and filamentous fungi. *Biomedical and Environmental Sciences*, 2008, 21 (3) : 181-187.
- [44] Zhang JP, Kan ZR, Su W. Decolourization and degradation of dye wastewater by co-culture group. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, 39 (18) : 11032-11034. (in Chinese)
- 张金平, 阚振荣, 苏维. 混合培养体系对实际染料废水的脱色与降解研究. 安徽农业科学, 2011, 39 (18) : 11032-11034.
- [45] Xie XH, Fan FX, Yuan XW, Liu N, Liu JS. Isolation of high performance bacterial consortium FF and its decolorization effects on reactive black 5. *Journal of Donghua University (Natural Science Edition)*, 2013, 39 (6) : 802-813. (in Chinese)
- 谢学辉, 范凤霞, 袁学武, 刘娜, 柳建设. 高效混合菌群 FF 的筛选及其对活性黑 5 的脱色作用. 东华大学学报 (自然科学版), 2013, 39 (6) : 802-813.
- [46] Xu MY, Sun GP, Guo J. Advances in microbial eco-systems metabolic network study. *Acta Microbiologica Sinica*, 2010, 50 (4) : 438-443. (in Chinese)
- 许玫英, 孙国萍, 郭俊. 微生物生态系统代谢网络研究进展. 微生物学报, 2010, 50 (4) : 438-443.

Progress in microbial co-culture – A review

Deyang Xu, Lili Wang, Chunmei Du^{*}

Key Laboratory of Microbiology of Heilongjiang Province, Heilongjiang University, Harbin 150080, Heilongjiang Province, China

Abstract: We reviewed the history and applications of microorganism co-cultivation in food, agriculture, industry and sewage purification, and summarized ecology relationships between co-culture microorganisms. Joint mixed culture, sequence mixed culture and immobilized cells mixed culture have been used widely and lots of achievements have been made, for example, obtaining metabolites that are difficult to achieve or too low production in pure culture, transforming traditional fermentation industry, producing energy substance, improving substrate utilization ratio, expanding the scope of substrates and degrading toxic substances. Research reports indicate there are many ecology relationships between microorganisms, such as collaborative metabolism, induction effect, quorum sensing and gene transfer. The ecological interplay mechanism of co-culture microorganisms should have a further research, which will lay the foundation for developing applications of microorganism co-culture.

Keywords: microorganism, co-culture, mixed fermentation, metabolites, applications

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the Natural Science Foundation of China (31370511) and by the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province of China (C201203)

^{*} Corresponding author. E-mail: duchunmei1972@sohu.com

Received: 5 December 2014 / Revised: 12 January 2015