

丁酸盐降解菌和氢营养菌共培养物的研究

钱泽澍 马晓航

(浙江农业大学, 杭州)

采用Hungate 厌氧技术, 对处理屠宰和柠檬酸废水的两个实验室厌氧消化器中的丁酸降解菌和氢营养菌进行了研究。观察到两个消化器中的丁酸盐降解菌的组成相同。丁酸盐转化为甲烷的过程由四种细菌共同完成。其中包括一种降解丁酸盐的产氢产乙酸细菌和一种利用乙酸盐的产甲烷菌, 以及两种形态完全不同的利用 H_2/CO_2 的产甲烷菌。对分离到的一株丁酸盐降解菌 SB1 菌株的鉴定表明, 该菌应属沃而夫氏互营单胞菌(*Syntrophomonas wolfei*)。

关键词 氢营养菌; 共培养物; 产氢菌

在厌氧条件下, 有机物的消化过程可分为四个阶段, 由四类不同的微生物共同完成^[1]。在这一复杂的微生物组成的食物链中, 产氢产乙酸细菌将各种有机酸和醇类转化为 H_2/CO_2 和乙酸的反应, 为产甲烷菌提供了大量的产甲烷基质。产甲烷菌利用 H_2/CO_2 形成甲烷, 降低了氢的分压, 促进了产氢产乙酸菌的生命活动。因而这两类细菌的代谢作用在厌氧消化过程中有着特殊重要的地位。

由于产氢产乙酸菌一般生长都很慢, 且生长条件也很苛刻, 因而这些细菌的代谢活动在某些情况下很可能成为厌氧消化中的限速因子。所以对这类细菌进行详细的研究, 了解它们的代谢特性, 以充分发挥其在厌氧消化中的作用, 是有实际意义的。

对这类产氢产乙酸菌的研究工作最早是由 Bryant 于 1967 年进行的^[2]。他对当时唯一的一株能利用乙醇产甲烷的奥氏甲烷芽孢杆菌 (*Methanobacillus omelianskii*) 的研究结果表明, 该菌实际上是由一种产甲烷菌与另一种不产甲烷的产氢产乙酸菌组成的共培养体。在共培养中两种细

菌通过互营联合降解乙醇。Bryant 根据这一事实, 提出丙酸以上有机酸的降解也是由产甲烷菌通过互营联合进行的。由于脂肪酸的降解需要维持环境中极低的氢分压^[3], 而这样低的氢分压用一般方法是难以达到的。1979 年 Bryant 采用在分离滚管时加入利用氢的脱硫弧菌为伴生菌的方法, 分离到了第一株能利用丁酸盐的产氢产乙酸细菌^[3]。此后, 人们采用与其相似的方法分离到了多种能降解脂肪酸的厌氧细菌^[2,4-10]。这说明在厌氧消化中脂肪酸的分解主要是通过互营联合进行的。我们采用了与 Bryant 相似的方法, 研究了处理屠宰废水和柠檬酸废水的两个实验室消化器中的丁酸降解菌和氢营养菌的共培养物。

材料和方法

(一) 污泥样品

污泥样品分别取自于实验室的 35℃ 处理柠檬酸废水和屠宰废水稳定运行的上流式污泥床消化器。

本文于 1987 年 8 月 17 日收到。
国家自然科学基金资助项目。

(二) 培养各种细菌用培养基

1. 基础培养基 (1L): 矿质元素溶液 50ml, 微量元素溶液 1ml, 刃天青 0.002g, 酵母膏 1g, 半胱氨酸 0.5g, $\text{Na}_2\text{S}-\text{NaHCO}_3$ 溶液 40ml。

2. 保持培养基 (1L): 消化器发酵液 50ml, 维生素溶液 10ml, 瘤胃液 20ml, 胰酶解酪蛋白 1g, 矿质元素溶液 50ml, 微量元素溶液 1ml, 刃天青 0.002g, 酵母膏 1g, 半胱氨酸 0.5g, $\text{Na}_2\text{S}-\text{NaHCO}_3$ 溶液 40ml。

矿质元素溶液 (g/L): K_2HPO_4 10, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 6.6, NaCl 8, NH_4Cl 8, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1。

微量元素溶液 (g/L): $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.03, H_3BO_3 0.3, $\text{COCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.2, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.01, $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.02, $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.15。

维生素溶液 (mg/L): 生物素 2, 叶酸 2, 盐酸吡哆醇 10, 核黄素 5, 硫胺素 5, 尼古酸 5, 泛酸 5, 钴胺素, 0.1, 硫辛酸 5。

$\text{Na}_2\text{S}-\text{NaHCO}_3$ 溶液的配制: 称取 $\text{Na}_2\text{S} \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 0.4g, NaHCO_3 2g, 加于 60ml 血清瓶中。在厌氧条件下加入 40ml 无氧水, 配成无氧试剂。于 121℃ 高压灭菌 20min 后用注射器按 4% 的量加入封装好的培养基中。

产甲烷菌的培养基采用含 50mmol/L 乙酸盐的基础培养基, 气相为 80:20(V/V) 的 H_2/CO_2 。

脱硫弧菌的维持培养采用含 30mmol/L 乳酸钠和 20mmol/L Na_2SO_4 的基础培养基。当将其作为伴生菌时采用 50 mmol/L 乙酸钠和 20 mmol/L Na_2SO_4 , 气相为 80:20 (V/V) H_2/CO_2 的基础培养基。

培养丁酸盐降解菌-脱硫弧菌共培养物培养基: 用含 30mmol/L 丁酸钠和 20mmol/L Na_2SO_4 的基础或保持培养基, 气相为 90:10 (V/V) 的 N_2/CO_2 。

培养丁酸盐降解菌-甲烷菌共培养物的培养基和丁酸降解菌-脱硫弧菌共培养物的培养基相似, 但不加 Na_2SO_4 。

上述各种培养基如用于滚管时再加入 2% 的琼脂。培养基 pH 为 7.2, 培养温度为 35℃。培养基的配制、细菌的分离和转接都采用改良的 Hungate 技术进行^[1]。

(三) 脱硫弧菌的分离

考虑到脱硫弧菌作为利用氢的伴生菌比产甲烷菌有更多的优越性, 在丁酸降解菌的分离中我们选用了脱硫弧菌。脱硫弧菌 D1 菌株分离自我校奶牛场沼气池。该菌利用乳酸盐、 H_2/CO_2 、苹果酸盐, 不利用丙酸、丁酸。菌体细胞一般为 S 形, 两头钝圆, 能运动, 革兰氏染色阴性, 电镜观察到单端丛生鞭毛 (图 1)。根据以上特征, 按 Postage 1979 年提出的硫酸盐还原菌分类系统^[11], 该菌为非洲脱硫弧菌 (*Desulfovibrio africanus*)。

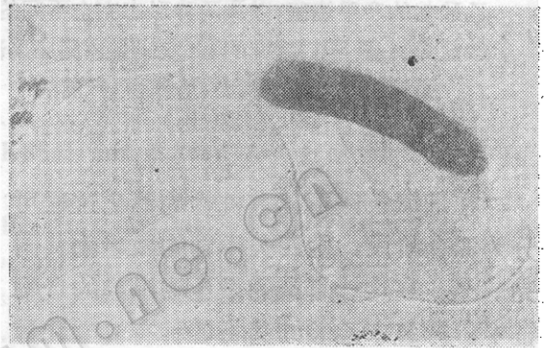


图 1 脱硫弧菌 D1 菌株的细胞 ($\times 12,000$)
Fig. 1 The cell of *Desulfovibrio* strain D1

(四) 丁酸盐降解菌群的富集

用注射器分别吸取两个消化器中部污泥 1ml, 以厌氧操作方法接种于装有 15ml 基础培养基 (含 30mmol/L 丁酸盐) 的 60ml 血清瓶中, 然后于 35℃ 培养。富集培养物每周转 15ml 于盛有新鲜培养基的血清瓶中。富集过程中除了测定气相中甲烷含量外, 还用 30ml 注射器测定丁酸分解后产生的气体总量, 判断丁酸分解情况。

(五) 分析方法

气体中甲烷含量用上海分析仪器厂生产的 102G 气相色谱仪以热导检测器测定。有机酸组成用山东鲁南化工仪器厂生产的 SP501 型气相色谱仪以氢火焰离子化检测器测定。

结 果

(一) 以丁酸盐富集丁酸盐降解菌和产甲烷菌

富集培养基接种了消化器污泥后, 无论是柠檬酸废水还是屠宰废水消化器污泥的富集培养物, 丁酸盐都很快明显降解, 并产生大量甲烷。这说明丁酸降解菌在两个消化器中都大量存在。测定有机酸组成发现, 在丁酸降解过程中只有少量乙酸积累, 表明在两个富集培养物中利用乙酸盐的产甲烷菌活性都很强。经过 3—4 个月的富集后, 培养物已很稳定。在富集培养物中主要存在着四种细菌。其中数量最多的是—种两头平的杆菌, 该菌经常多个联在一起, 形成如头发一样的长丝状体。用乙酸盐进行培养则该菌生长旺盛, 并产生大量甲烷。说明它是富集培养中主要的利用乙酸盐的产甲烷菌。根据形态分析, 该菌可能是索琴氏甲烷丝菌 (*Methanothermobacter*)。其次是一种细长略弯的杆状细菌。该菌菌体两头平, 其形态很像能够利用 H_2/CO_2 的甲烷螺菌 (*Methanospirillum*)。菌体量占第三位的是一种球菌。在以后的试验中证明该菌是一种能利用 H_2/CO_2 而不利用乙酸盐的甲烷菌。菌体量最少的是一种弯曲, 两头略尖的杆菌。该菌形态很像 Bryant 所报道过的沃而夫氏互营单胞菌 (*Syntrophomonas wolfei*)。估计它就是富集培养中的丁酸降解菌。此外, 在富集培养物中还存在着一种和脱硫弧菌形态相似的细胞, 但数量很少。无论是柠檬酸废水还是屠宰废水消水器的污泥, 用丁酸盐富集后, 其细菌组成从形态上看基本相似。

(二) 球状产甲烷细菌的分离

用屠宰厂废水消化器的丁酸盐富集培养物 0.1ml, 10 倍系列稀释后, 用甲烷菌培养基进行滚管。35℃ 培养 15—20d 后在稀释度高的滚管中长出了很小的淡黄色菌落。在荧光显微镜下用 420nm 光照射时, 菌落产生明亮的荧光。因此判断它们

为产甲烷菌菌落。菌落边缘完整, 呈圆形或椭圆形, 即使延长培养时间其直径也不会大于 1mm。菌体进行染色, 镜检, 均为

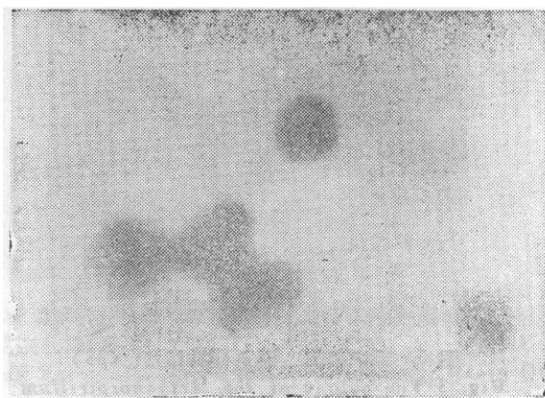


图 2 球状产甲烷菌 SA1 菌株细胞 (×12, 000)
Fig. 2 The cells of coccoid methanogen strain SA1

球状细菌。将挑下的菌落进行 10 倍系列稀释后立即滚管, 培养后即得到纯的球状产甲烷菌 SA1 菌株 (图 2)。该菌能利用 H_2/CO_2 , 虽然也利用甲酸盐, 但利用能力很差, 不利用乙酸产甲烷。对该菌还没有作进一步的鉴定。

(三) 甲烷螺菌的分离

虽然在数量上看, 富集培养中与亨氏甲烷螺菌形态相似的一种菌的数量比球状甲烷菌多, 但几次滚管分离的结果长出的都是球菌菌落。分离该菌的工作进行了多次。最后得到了一种和球菌形态不同的菌落。该菌落比球菌的大, 呈不规则圆形, 直径约 1—2mm, 边缘光滑, 菌落表面有条纹 (图 3)。用紫外线照射时产生明亮的荧光, 但如延长照射时间荧光会很快消失。用显微镜观察菌体细胞发现其形状和甲烷螺菌相似。将再次滚管长成的菌落移接后, 用 H_2/CO_2 培养, 就得到了纯的甲烷螺菌 SA2 菌株 (图 4)。该菌能利用 H_2/CO_2 、甲酸盐, 不利用甲醇, 也不利用乙酸产甲

烷。进一步研究结果表明该菌还能利用异丙醇和 CO_2 生成甲烷。

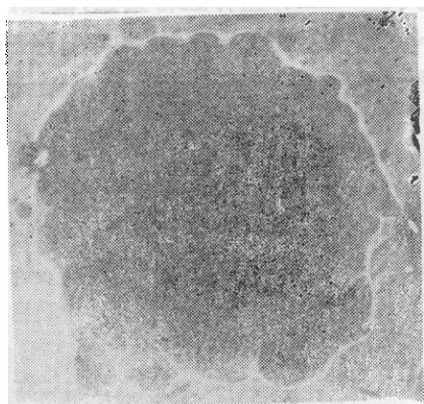


图 3 甲烷螺菌 SA2 菌株菌落($\times 33$)

Fig. 3 The colony of the *Methanospirillum* strain SA2

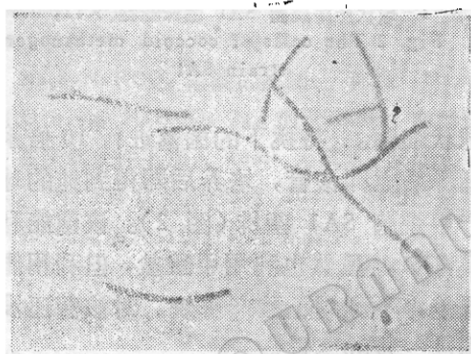


图 4 甲烷螺菌 SA2 菌株细胞($\times 1,250$)

Fig. 4 The cells of the *Methanospirillum* strain SA2

(四) 丁酸降解菌和氢营养菌的共培养物

1. 丁酸降解菌和脱硫弧菌 D1 菌株的共培养物的获得: 用注射器吸取 0.1ml 生长良好的富集培养物到丁酸盐降解菌-脱硫弧菌的液体培养基中, 进行 10 倍系列稀释。然后于每一稀释度吸取 0.1ml 菌液, 接种预先融化的丁酸盐降解菌-脱硫弧菌固体培养基。同时接种 0.25—0.3ml 预先用 H_2/CO_2 培养, 生长良好的脱硫弧菌 D1 菌株菌液。混匀后马上滚管。培养 3 个月左右, 估计丁酸盐降解菌菌落已经长成, 用加入 FeSO_4 的方法发现在滚管中有一种

黑色菌落具有很强的产 H_2S 能力。因而判断其中必然存在着硫酸盐还原菌。用显微镜观察这些黑色菌落中的菌体, 发现菌落由两种细菌所组成。其中一种菌的形态和富集培养中的弯杆菌(类似于沃而夫氏互营单胞菌)相似。而另一种则是在滚管时加入的脱硫弧菌 D1 菌株。进一步将这些菌落移至丁酸降解菌-脱硫弧菌的液体培养基中, 培养 10d 后, 发现丁酸有了明显的降解, 同时生成大量乙酸。

将屠宰废水消化器的富集培养物滚管形成的菌落接种于丁酸降解菌-脱硫弧菌培养基中。一周后培养基开始混浊, 用显微镜观察发现除丁酸降解菌和脱硫弧菌 D1 菌株外, 无其它杂菌。将其转移至含葡萄糖的培养基中培养后, 没有发现杂菌生长。用以前相同的方法滚管培养后, 生成的菌落形态都相同。说明我们已经得到了纯的丁酸盐降解菌 SB1 菌株-脱硫弧菌 D1 菌株共培养物(图 5)。用同样方法从柠檬酸废水得到了丁酸降解菌 SB2 菌株-脱硫弧菌 D1 菌株共培养物。由于丁酸盐降解菌 SB1 菌株与 SB2 菌株形态相同, 在以后的实验中采用丁酸降解菌 SB1 菌株为实验材料。

2. 丁酸盐降解菌和产甲烷菌的共培养物的分离: 接种甲烷螺菌 SA2 菌株和丁酸降解菌 SB1 菌株-脱硫弧菌 D1 菌株共培养物各 0.2ml 于装有丁酸降解菌-产甲烷菌培养基的培养管中, 同时在气相中加入 3ml 氢气以抑制丁酸降解菌, 然后加入最终浓度为 4200 单位的青霉素钾盐。将经以上处理的培养管平放, 培养 10d 后转移 10% 至新鲜培养基中。再培养 20d 后培养基开始混浊, 用显微镜观察发现脱硫弧菌 D1 菌株已经除去。获得丁酸降解菌 SB1 菌株和甲烷螺菌 SA2 菌株共培养物(图 6)。

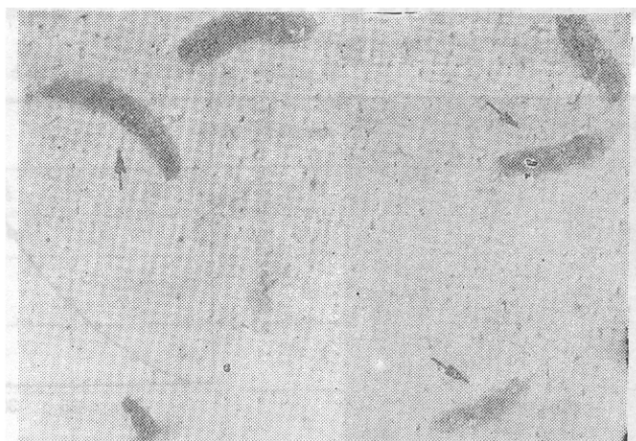


图 5 丁酸降解菌 SB1 菌株-脱硫弧菌 D1 菌株共培养物($\times 7100$)箭头示丁酸降解菌 SB1 菌株细胞及鞭毛着生位置。

Fig. 5 The co-culture of the butyrate-degrading bacterium strain SB1-*Desulfovibrio* strain D1. The arrows show the cells of the strain SB1 and the flagella.

观察接种了丁酸盐降解菌 SB1 菌株-脱硫弧菌 D1 菌株共培养物及球状产甲烷菌 SA1 菌株的培养物,再接种球状产甲烷菌 SA1 菌株以它作为伴生菌进行滚管,除去了脱硫弧菌获得丁酸盐降解菌和球状产甲烷菌的共培养物(图 7)。

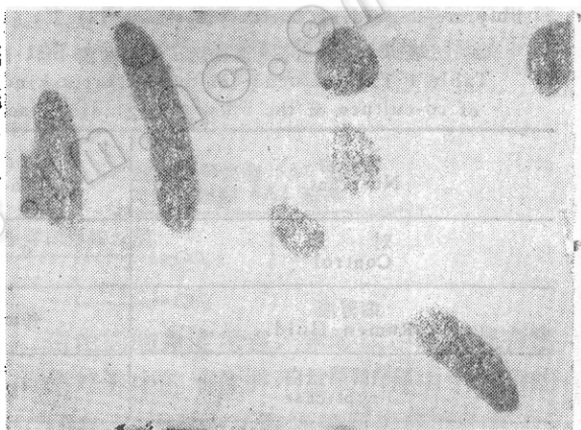


图 7 丁酸降解菌 SB1 菌株-球状产甲烷 SA1 菌株共培养物($\times 10,400$)

Fig. 7 The co-culture of the butyrate-degrading bacterium strain SB1- the coccoid methanogen strain SA1



图 6 丁酸降解菌 SB1 菌株-甲烷螺菌 SA2 菌株共培养物($\times 7,100$)

Fig. 6 The co-culture of the Butyrate-degrading bacterium strain SB1-*Methanospirillum* strain SA2

(五) 丁酸降解菌 SB1 菌株的形态及培养特征

丁酸降解菌 SB1 菌株的形态较为特

殊,为弯月形,中间较粗,两端逐渐变细。头部为钝圆形,两边很对称。其大小为 $0.6 \times 2.5-6.0 \mu\text{m}$ 。革兰氏染色阴性。在相差显微镜下能看到细菌的运动,但其运动能力不及脱硫弧菌 D1 菌株强。用电镜可观察到细菌的侧生鞭毛。鞭毛于细胞侧旁的凹处伸出,数量为 1—4 根,较稀疏地分布于细胞凹侧(图 8)。该菌与脱硫弧菌共培养物的最佳生长温度为 35°C , 高于 45°C 和

低于 15℃ 该培养物都不能生长(图 9)。瘤胃液、胰酶解酪蛋白、酵母膏、复合维生素

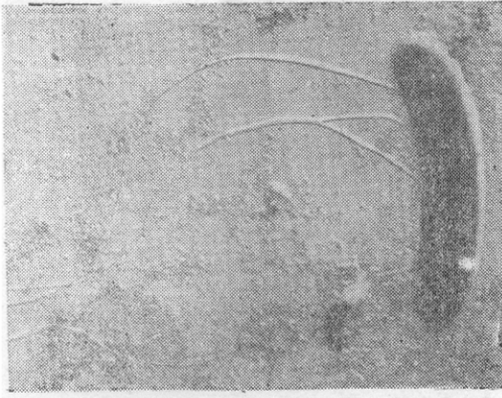


图 8 丁酸降解菌 SB1 菌株细胞的鞭毛着生情况($\times 12,000$)

Fig. 8 The flagella arrangement of the butyrate-degrading bacterium strain SB1

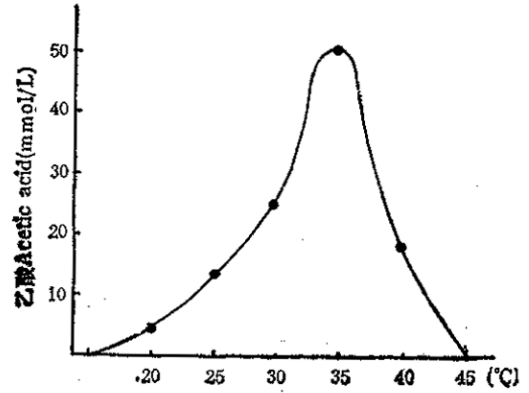


图 9 温度对丁酸降解菌株-脱硫弧菌 D1 菌株共培养物的影响

Fig. 9 The influence of temperature on the growth of co-culture of the butyrate-degrading bacterium strain SB1-*Desulfovibrio* strain D1

表 1 各种生长刺激物对丁酸降解菌 SB1 菌株-脱硫弧菌 D1 菌株共培养物生长的影响

Table 1 The influence of the different kinds of stimulating substance to the growth of co-culture of the butyrate-degrading bacterium strain SB1-*Desulfovibrio* strain D1

营养物 Nutrient	浓度(L) Concn.	乙酸 Acetic acid (mmol/L)	丁酸* Butyric acid (mmol/L)
对 照 Control	0	12.0	21.3
瘤胃液 Rumen fluid	40ml	21.2	9.3
胰酶解酪蛋白 Trypticase	4g	22.7	16.1
酵母膏 Yeast extract	4g	23.7	17.8
维生素溶液 Vitamin sol'n	20ml	16.6	16.9
维生素+胰酶解酪蛋白 Vitamin+Trypticase	20ml + 2g	22.4	17.1

* 原始丁酸盐浓度 Original butyrate (30 mmol/L)

溶液对该共培养物都有刺激作用(表 1)。

基质试验表明该菌除了利用丁酸外,还能利用 C_5 — C_8 的直链脂肪酸(表 2)。但在利用辛酸 (C_8) 培养时其生长速度很慢,该菌不利用 C_9 以上的脂肪酸。

讨 论

1. 柠檬酸废水和屠宰废水是两类性质

完全不同的废水。柠檬酸废水含碳水化合物较多,而屠宰废水则含有大量的蛋白质类物质。因而分解这两类废水的微生物区系肯定不同。这点可从两类消化器中污泥的结构中也能看出。处理柠檬酸废水消化器污泥有很好的颗粒性,而屠宰废水消化器中污泥则形成污泥絮体。但在这两个消化器中得到了二株形态相似的丁酸降解

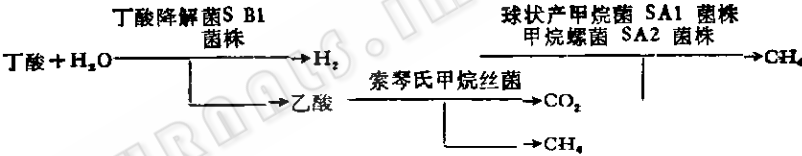
表 2 丁酸降解菌株 SB1 和产甲烷螺菌 SA3 菌株共培养时对各种基质的利用
Table 2 The utilization of the different kinds of substrate by co-culture of the butyrate-degrading bacterium strain SB1-Methanospirillum strain SA3

基质 Substrate 20 m mol/L	产物 Product					培养时间 (d) Incubation time
	甲烷 Methane (μ mol/vial)	乙酸 Acetic acid (m mol/L)	丙酸 Propionic acid (m mol/L)	丁酸 Butyric acid (m mol/L)	戊酸 Valeric acid (m mol/L)	
丁酸 Butyric acid	278	41.2	0	—	—	20
戊酸 Valeric acid	184	18.7	17.9	0	—	11
己酸 Caproic acid	314	47.0	0	5.9	0	20
庚酸 Heptylic acid	289	15.1	8.1	0	5.0	26

注：SA3 菌株系倪水松自苯甲酸富集培养物中分离。

菌。这一结果说明互营单胞菌 (*Syntrophomonas*) 在两个废水性质不同的消化器中同样起着丁酸降解的主导作用。

2. 在利用丁酸盐的产甲烷富集培养



在这一由多种细菌组成的连锁反应中,丁酸分解成氢和乙酸是一关键反应。由丁酸降解菌 SB1 菌株进行的这一反应,为两种利用氢和一种利用乙酸的产甲烷菌提供了生长的基质。存在于富集培养物中的球状产甲烷菌 SA1 菌株和甲烷螺菌 SA2 菌株,利用丁酸降解菌分解丁酸产生的氢,将环境中的氢分压保持在很低水平,使丁酸的分解能顺利进行。否则,氢将在环境中积累,最终将导致丁酸降解的停止。富集培养中产生的乙酸盐,则由索琴氏甲烷丝菌利用,转化为甲烷和 CO_2 。根据化学热力学原理,降低乙酸盐浓度也会使反应自由能变小,而利于丁酸的分解。但从实验结果来看乙酸盐浓度对丁酸降解的影响远不如环境中氢浓度的影响大。因此,如从

中,根据形态观察和对各种细菌的分析鉴定,认为在富集培养中,丁酸盐是按以下过程分解的:

自由能的角度考虑,索琴氏甲烷丝菌在富集培养中的地位并不重要,但由于该菌的存在,利用了由丁酸降解所形成的乙酸盐,排除了可能存在的高浓度乙酸盐的毒害作用。此外由于消耗了乙酸盐,对改善环境 pH 也有积极的作用。

3. 根据报道,以 H^+ 为唯一电子受体,氧化丁酸盐的细菌共有四种。其中已定名的三种,另一种未定名的是嗜热的丁酸降解细菌^[4]。其余三种为中温细菌,分为两属。其中一种属于梭菌属 (*Clostridium*),能形成芽孢,分解 4—11 碳的脂肪酸,菌体不运动。另二种细菌归入新的互营单胞菌属。两种菌的形态相同,为两头略尖的弯杆菌,菌体大小为 $0.5-1.0 \times 2.0-7.0 \mu\text{m}$,革兰氏染色阴性,于细胞弯曲的凹侧

伸出 2—4 根鞭毛,但运动性能不强,不形成芽孢。两种菌的唯一不同之处为利用的基质范围不同。沃而夫氏互营单胞菌只利用 4—8 碳的直链脂肪酸和异庚酸,而食长链脂肪酸互营单胞菌 (*Syntrophomonas sapovorans*) 则能利用 4—18 碳的直链脂

酸和一些不饱和脂肪酸(表 3)。

根据我们分离到的丁酸降解菌 SB1 菌株的形态来看,该菌应属于 *Syntrophomonas* 属,而根据其利用基质范围判断,则与 *S. wolfei* 相似,为此确定该菌为 *S. wolfei* SB1 菌株^[2]。

表 3 降解丁酸盐的各种产氢产乙酸菌

Table 3 Different kinds of hydrogen-producing acetogen for butyrate-degrading bacteria

菌名 Name of bacteria	温度 Temp.	利用有机酸 Organic acid utilized	形态 Morphology	芽孢 Spore	鞭毛 Flagella
沃而夫氏互营单胞菌 (<i>Syntrophomonas wolfei</i>)	中温 mesophilic	C ₄ —C ₈	弯曲杆状 curved rod	无 no	侧生 lateral
食长链脂肪酸互营单胞菌 (<i>S. sapovorans</i>)	中温 mesophilic	C ₄ —C ₈	弯曲杆状 curved rod	无 no	侧生 lateral
布赖恩特氏梭菌 (<i>Clostridium bryantii</i>)	中温 mesophilic	C ₄ —C ₁₁	杆状 rod	有 present	
嗜热丁酸盐利用菌 A thermophilic acetate-utilizing bacterium	高温 thermophilic	C ₄	弯曲杆状 curved rod	无 no	

参 考 文 献

- [1] 钱泽澍等: 沼气发酵微生物学, 浙江科技出版社, 杭州, 1986。
- [2] Bryant, M. P. et al.: *Arch. Microbiol.*, 59: 20—31, 1967.
- [3] McInerney, M. J. et al.: *ibid.*, 122: 129—135, 1979.
- [4] Henson, J. M. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 49: 1461—1466, 1985.
- [5] Boone, D. R. et al.: *ibid.*, 40: 626—632, 1980.
- [6] Roy, F. et al.: *ibid.*, 49: 702—705, 1985.
- [7] Roy, F. et al.: *Arch. Microbiol.*, 145: 142—147, 1986.
- [8] Stib, M. et al.: *ibid.*, 140: 381—390, 1985.
- [9] Tomel, F. A. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 50: 1244—1250, 1979.
- [10] Zinder, S. M. et al.: *Arch. Microbiol.*, 138: 263—272, 1984.
- [11] Postage, J. R.: *The Sulfate Reducing Bacteria*, Cambridge University Press, 1979.
- [12] McInerney, M. J. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 44: 1029—1039, 1981.

STUDIES ON BUTYRATE-DEGRADING BACTERIUM IN CO-CULTURE WITH HYDROGENOTROPHS

Qian Zeshu* Ma Xiaohang

(Zhejiang Agricultural University, Hangzhou)

The butyrate-degrading bacteria and hydrogenotrophic bacteria in the two digesters which fed slaughterhouse sewage and citric acid fermentation waste water have been analysed by using the Hungate anaerobic technique. The butyrate-degrading bacteria in the two digesters were morphological similar. Four different bacteria took part in the butyrate to methane and CO_2 converting process. It included one butyrate-degrading acetogenic hydrogenogen, an acetate utilizing and two H_2 -

utilizing methanogens. The butyrate-degrading bacterium was identified as *Syntrophomonas wolfei*

Key words

Co-culture; Hydrogenotrophs; Hydrogenogens

* i.e. Chien Tseshu