

固氮螺菌耐高铵突变株的生物学特性

罗孝扬 蒋亚平 蔡金芝 杨宝玉 欧阳曙*

(中国科学院武汉病毒研究所,武汉)

严家骥

(武汉大学,武汉)

摘要 本文报道 9 株固氮螺菌耐铵突变株,在培养基中有 $30-120\text{m mol/L NH}_4^+$ 存在时,具有强弱不等的固氮酶活性。而出发菌株在有微量 NH_4^+ 存在时,固氮酶活性完全被抑制。耐铵突变株的其它特性与出发菌株相似。

关键词 固氮螺菌;耐铵突变株

固氮螺菌 Sp7、Ma99、G14、Ma241 作为出发菌株,经 NTG 诱变剂处理后,用含有乙撑二胺(ethylene diamine)的 Döbereiner 无氮培养基筛选获得耐 $30-200\text{m mol/L NH}_4^+$ 的突变株^[1]。本文报道 9 株耐高铵突变株的生物学特性。

材料和方法

(一) 菌种来源

耐铵突变株菌号 22 (全称 CWV-22)、47、48、136-1、19-1、23、14、24、79 分别以固氮螺菌 Sp7、Ma241、Ma99、G14 为出发菌株,经 NTG 诱变获得^[1](见表 1)。

(二) 培养基和培养条件

采用参考文献[2]的方法。

(三) 培养特征及生理生化特性

采用常规方法^[3]。

(四) 固氮酶活性的测定

用乙炔还原法在气相色谱仪上测定固氮酶活性^[4]。

(五) 血清学方法

试管交叉凝集反应^[4]。

结果和讨论

(一) 形态和培养特征

杆状,大小为 $1-2.5 \times 0.3-0.9\mu\text{m}$ 。菌株 22 通常呈链状排列,48、79 和 19-1 号菌在 SM 培养基(即 Döbereiner 培养基)上培养 5 天,菌体弯曲呈 S 形,其余为单生。革兰氏阴性,运动,极生鞭毛或周生鞭毛(见图 1)。在 SM 培养基上培养 3 天(30°C)的菌落特征见表 1。

在 SM 液体培养基中 30°C 振荡培养,生长

本工作为中国科学院科学基金资助项目。

* 为武汉大学 85 届毕业生在本所实习。

陈华葵教授对本项课题给予热情指导。显微照片由谢裕敏同志拍摄,电镜照片由本所技术室拍摄,特此致谢。

表1 耐铵突变株的培养特征

出发菌株	突变株	培养特征
Sp7	22	圆形,直径约 0.2mm,边缘呈锯齿状,中央稍凸起。
	47	圆形,直径约 0.2mm,边缘整齐,表面稍凸起。
	48	圆形,直径约 1mm,边缘整齐,表面稍凸起。
	136-1	圆形,直径约 1mm,边缘整齐,表面粘稠状,稍凸起。
Ma211	19-1	圆形,直径约 0.7mm,边缘整齐,粘稠状,稍凸起。
	23	圆形,直径约 0.5mm,边缘锯齿状,表面稍凸起。
Ma99	17	圆形,直径约 0.3mm,边缘整齐,表面稍凸起。
G14	24	圆形,直径约 0.5mm,边缘锯齿状,表面稍凸起。
	79	圆形,直径约 1.2mm,边缘整齐,表面平坦。

对数期在 18 小时左右,生长适宜温度 28—32℃,生长适宜 pH6—8。

(二) 耐铵突变株的生理生化特性(见表2)

(三) 不同氮源对固氮酶活性的影响

1.当培养基中 NH_4^+ 浓度为 30—200 m mol/L 时,9 株突变株有程度不同的固氮酶活性^[5]。

2.当培养基中 NO_3^- 浓度在 20m mol/L 以下,菌株 47、48 具有固氮酶活性。

3.当培养基中谷胺酰胺浓度在 40m mol/L 以下,菌株 22、24 有固氮酶活性^[5]。

4.当培养基中有 75m mol/L NH_4^+ 和 0.5 m mol/L NaCl 存在时,菌株 22 仍有固氮酶活性。

(四) 血清学反应

采用出发菌株的抗血清^[4]与相应的突变株进行试管交叉凝集反应,结果表明为同一血清型。

以上试验结果表明,固氮螺菌耐铵突变株与出发菌株的特性相似^[6]。所不同的是出发菌株当培养基中有微量 NH_4^+ 存在时,固氮酶活性

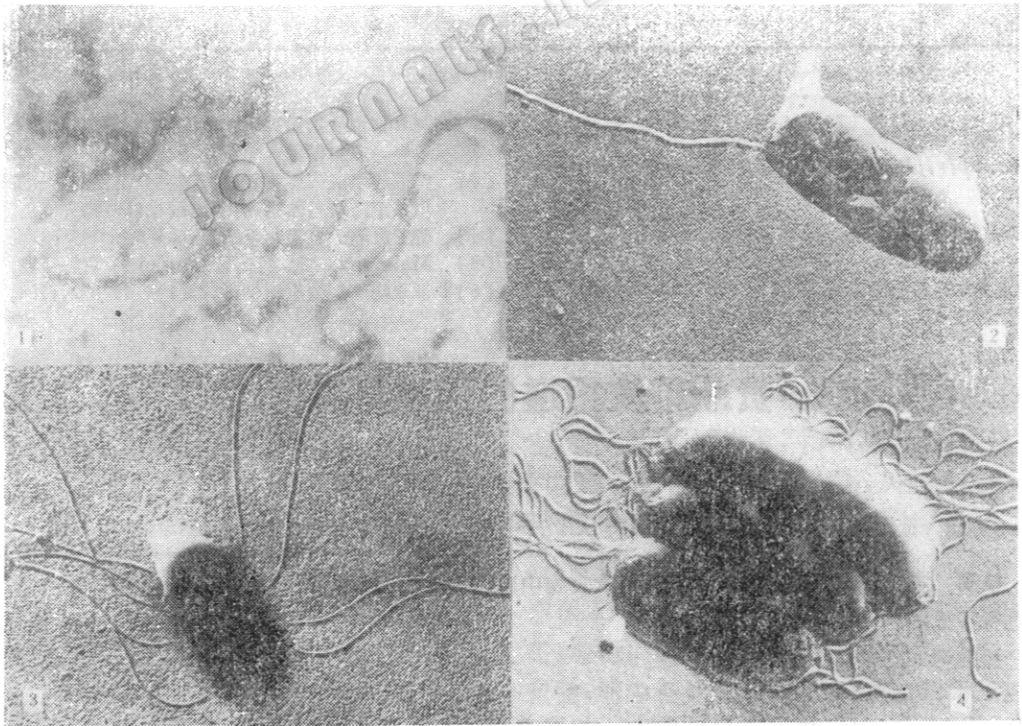


图1 固氮螺菌耐铵突变株的形态

- 1.突变株 22(×1000) 2.突变株 22,示极生鞭毛(×13400) 3.突变株 23,示周生鞭毛(×13400) 4.突变株 24(×13400)

表2 耐盐突变株的生理生化特性

项目 \ 菌株	22	47	48	136-1	19-1	23	14	24	79
接触酶	+	+	+	+	+	+	+	+	+
氧化酶	+	-	+	+	+	-	+	-	+
吲哚	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H ₂ S	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V-P	-	-	-	-	+	+	-	+	-
甲基红	-	+	-	-	-	+	-	+	-
硝酸盐还原	+	-	+	+	+	+	+	-	+
硫酸铵	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
氯化铵	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
醋酸铵	+	+ ⁻	-	+ ⁻	+++	++	-	+	-
硝酸钾	+++	+	+	+	+++	++	+++	++	+
胰蛋白酶	+++	++	++	+++	+++	+++	+++	++	+++
酵母膏	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
尿素	++	+ ⁻	+	+++	++	+	++	+ ⁻	++
谷氨酰胺	+++	+	++	++	+++	+++	+++	+	+++
谷氨酸钠	+++	+	++	+++	+++	+++	+++	+	+++
葡萄糖	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
蔗糖	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
麦芽糖	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
甘露醇	++	+++	++	+++	+++	+	+++	+++	+
苹果酸钠	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
核糖	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++
甘油	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
淀粉	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

注：“+++”代表生长很好，“++”生长好，“+”生长一般，“+⁻”生长微弱，“-”不长

完全被抑制。因此可认为以上突变株为出发菌株 *Azospirillum brasilense* 的变种。

参 考 文 献

[1] 罗孝扬等: 微生物学报, 26(1): 47-52, 1986.

[2] 湖北省微生物研究所生物固氮组: 微生物学报, 19(2): 160-165, 1979.

[3] 中国科学院微生物研究所细菌分类组: 《一般细菌常用鉴定方法》, 北京, 科学出版社, 1978.

[4] 蒋亚平等: 微生物学通报, 11(6): 247-250, 1984.

[5] Мансурян, А. Н.: Генетика, 4:575-597, 1982

[6] 罗孝扬等: 微生物学报, 23(1): 68-72, 1983.