

# 乙烷氧化菌的研究\*

張愷民 趙志榮\*\*  
(中国科学院微生物研究所, 北京)

自1906年 N. L. Söhngen<sup>[1]</sup> 首先发现甲烷氧化菌以来,已发现了許多細菌能利用甲烷、乙烷、丙烷、丁烷和其他較高級的烴类<sup>[2]</sup>。由于这类菌具有利用烴的特殊能力,它們一直为許多研究者所注意。在苏联地質学家 Г. А. Молевский<sup>[3]</sup> 1937年所提出的勘探石油的微生物方法中,把气态烴氧化菌作为油气藏的指示菌。此后,随着石油微生物勘探法日益获得实际的成效,对气态烴氧化菌的研究就更为人們所重視。

在石油微生物勘探中,常应用甲烷、乙烷和丙烷氧化菌。对于早就发现的甲烷氧化菌,已积累了很多資料,近年来 E. R. Leadbetter 和 J. W. Foster<sup>[4]</sup> 更做了系統的研究,由于甲烷現代形成在自然界普遍存在,因此甲烷氧化菌不能作为专异的指示菌。丙烷氧化菌在苏联被認為是最有效的指示菌,因此 E. H. Бокова<sup>[5]</sup>, С. И. Кузнецов<sup>[6]</sup>, З. П. Телегина<sup>[7,8]</sup> 和 Dostálek<sup>[9]</sup> 等許多工作者进行了一系列的研究。乙烷氧化菌是 B. M. Губин<sup>[10]</sup> 在1923年初次发现的,他以无机培养基和乙烷,从淤泥中分离到了这种菌,定名为 *Bacterium hidium*; 1941年 L. W. Blau 的专利<sup>[11]</sup>中提到了氧化乙烷的 *Bacillus ethanicus*, 但没有作詳細的描述; 以后 E. H. Бокова<sup>[5]</sup>, J. B. Davis<sup>[12]</sup> 和 Dostálek<sup>[13]</sup> 等陸續分离得 *Mycobacterium perrugosum* var. *ethanicum*, *Mycobacterium paraffinicum* n. sp. 和 *Pseudomonas ethanica* 等乙烷氧化菌,并进行了研究。虽然已积累了一些有关乙烷氧化菌的資料,但与甲烷氧化菌和丙烷氧化菌的研究相比較,还显得很不够。

在我国应用石油微生物勘探法勘测中,发现乙烷氧化菌在我国油田底土中分布較广,可能是可靠的指示菌,因此进一步研究乙烷氧化菌具有重要的实际意义。本文报告了乙烷氧化菌的分离、鉴定和某些生理特性。

## 一、材料和方法

**材料** 分离用的土样采自南充、蓬萊和李庄子油田底土,有一个水样采自北京西苑自流井。

**选择培养和分离方法** 取2克土样或5毫升水样,加入装有20毫升无机培养基的小培养杯中,置于真空干燥器,抽去空气,通入約40%乙烷,通气量按压力計水銀柱高計算,于30°C 温室培养12天。所用的 Бокова 无机培养基<sup>[5]</sup> 成分为: KNO<sub>3</sub>, 0.1克; MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 0.02克; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.02克; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.08克; NaCl, 0.1克; 蒸餾水, 100毫升; pH 7.2。选择培养获得的菌体,移入装有玻璃珠和生理食盐水的細口瓶中,充分振蕩使細菌很好分散后,用平板稀释法分离,分离用的固体培养基为上

\* 菌种鉴定工作全部在本所王大相先生热心指导下进行。本文曾請閻遜初先生审閱,特此一并致謝。

\*\* 技术助理: 曹家燾。赵志榮为林业土壤研究所生物分所进修同志。

本文1964年2月14日收到。

选无机培养基加 1.5% 水洗洋葱, 培养条件和选择培养相同。挑选生长在平板上的各种不同的单菌落, 分别重复分离两三次, 直到平板上只出现单一菌落后, 把单菌落移接到无机液体培养基中和无机洋葱斜面上培养。菌株纯度用镜检、革兰氏染色和肉汁平板划线来检查, 观察细胞形态的一致性, 和在肉汁平板上是否只出现单一菌落。

**菌株的鉴定** 根据 Н. А. Красильников<sup>[14]</sup> 的细菌和放线菌的鉴定进行。

**烃气的制备** 试验中应用的甲、乙、丙、丁烷和相应的烯烃均由实验室自己制备。甲烷用 Dumas 法制备, 乙烷用电解法制取<sup>[15]</sup>。制得的甲烷和乙烷分别通过 50% KOH 洗去 CO<sub>2</sub>, 以液体氮使甲烷和乙烷冷凝成液体, 含有的杂质——氢仍为气态而被分离, 液态的甲烷和乙烷气化成纯的气体; 乙烷用乙醇脱水, 丙烯和丁烷用异丙醇和异丁醇, 通过 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 接触, 加热脱水制取<sup>[16]</sup>; 丙烷和丁烷是用丙烯和丁烯, 经镍粉接触, 加氢制取<sup>[16]</sup>。制得的丙烷和丁烷也以液体氮冷凝成液体, 使与可能含有的氢分离, 最后获得纯气。所有这些气体都用气体体积色谱仪分析, 证明除空气外并不存在其他杂质。试验中应用的液态和固态烃化合物均为纯级药品。

**细菌生长的定量测定** 此测定是以 71 型分光光度计比浊, 用 540 毫微米的滤光片, 测定前充分振荡培养物, 使成均匀的混浊液, 光吸收 10% 大约代表 0.32 毫克/毫升的细胞干重。

## 二、结果和讨论

**1. 乙烷氧化菌的分离和纯培养特征的描述** 样品接种于无机液体培养基中, 在乙烷气圈内选择培养 12 天后, 在液面生长出白色或粉红色的菌膜。分离时, 在无机洋葱平板上培养 12 天后, 生长出很细小的菌落, 根据 Н. А. Красильников 的分类法进行鉴定,

结果见表 1。菌号为 PE12 等七株菌都与 *Mycobacterium lacticum* 很相近; LE2 和 PeE1 均为 *Pseudomonas*; PE10b 为 *Bacterium*。除了 *Mycobacterium* 的七株菌外, 其他三株菌, 在研究过程中丧失了氧化乙烷的能力, 因此只对 *Mycobacterium* 的七株菌做了进一步的研究。至于气态烃氧化菌氧化能力的退化, 也曾为 W. E. Hutlon, C. E. ZoBecl<sup>[17]</sup> 和 H. Völz, U. W. Schwarts<sup>[18]</sup> 报导过, 其原因尚不了解。

### *Mycobacterium* (PE 12 等 7 株菌) 的纯培养特征

#### (1) 细胞形态特征:

年幼细胞杆状, 稍弯曲, 具有分枝(图 1) 革兰氏阳性, 耐酸性弱(耐酸染色中阳性细胞较少), 24 小时大小为  $2.2-8.5 \times 0.6-0.7$  微米; 老年细胞分枝消失, 细胞明显缩短, 并变成球形(图 2), 培养 48 小时, 大小一般为  $1.0-4.5 \times 0.6-0.7$  微米, 72 小时以后开始变成球形。

#### (2) 培养特征

在无机洋葱平板上和乙烷气圈中培养, 生长的菌落细小, 淡粉红, 圆形突起, 无光泽。无机斜面上利用乙烷生长呈蠕型(图 3), 表面粗糙, 无光泽, 有粒状突起, 淡粉红色, 质度膏脂状不呈粘液状。在无机液体培养基表面生长成粉红色菌膜(见图 3), 菌膜易碎; 年老时颜色变深, 菌体沉淀于管底。在肉汁平板上生长的年幼菌落, 圆形突起, 边缘完整, 颜色为蜜黄; 4 天以后菌落变大, 并分裂成四瓣或不规则的花纹(图 4)。

表 1 分离出的各种乙烷氧化菌

菌号	样品来源	分类地位
NE01	南 充	<i>Mycobacterium</i>
PE09	蓬 莱	
PE10	蓬 莱	
PE11	蓬 莱	
PE12	蓬 莱	
LE1	李 庄子	
LE3	李 庄子	
LE2	李 庄子	<i>Pseudomonas</i>
PeE1	北京西苑	
PE10b	蓬 莱	<i>Bacterium</i>

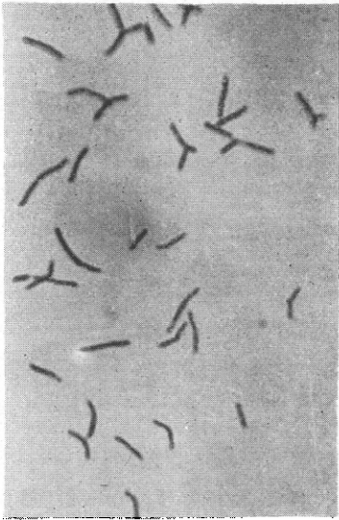


图1 培养 24 小时的 *Mycobacterium lacticum* var. *ethanicum* 的細胞 (放大 2700 倍)



图2 培养 48 小时的 *Mycobacterium lacticum* var. *ethanicum* 的細胞 (放大 2700 倍)



图3 *Mycobact. lacticum* var. *ethanicum* 在无机液和无机洋菜斜面上生长的形态

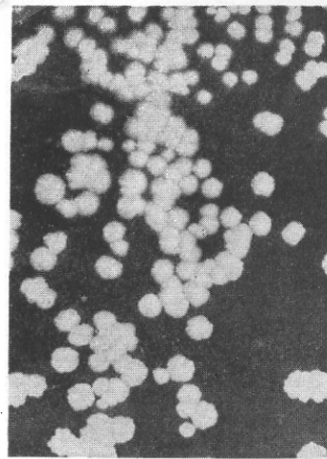


图4 *Mycobact. lacticum* var. *ethanicum* 在肉汁平板上生长的菌落

(3) 生理特征

明胶不液化。在石蕊牛奶中发育良好，但不凝固也不腭化。对氮氮、硝酸氮、蛋白胨和天门冬素的有机氮同样能良好利用。硝酸盐还原。氧化果糖、葡萄糖和麦芽糖产酸，淀粉不水解。V. P. 和吲哚试验为负反应。最适温度 25°—30°C，最低和最高温度为 10° 和 37°C。最适 pH 为 7.0。能利用乙烷到戊烷的直链烃生长，但不利用甲烷生长。

该菌的形态和生理特征与 *Mycobacterium lacticum* 十分相近，而不同的是形态上为崎岖型，能还原硝酸盐，并能氧化乙烷等烃类化合物。3. П. Телегина<sup>[7]</sup> 曾报告过一株氧化丙烷的 *Mycobacterium lacticum*，但此菌也不还原硝酸盐，除利用乙烷和丙烷外，还能

利用甲烷。由于我們所分离的菌与 *Mycobacterium lacticum* 和 Телегина 分离的丙烷氧化菌不完全相同,并以良好利用乙烷为特征,因此建議定名为 *Mycobacterium lacticum* var. *ethanicum* 作为 *Mycobacterium lacticum* 的一个变种。E. H. Бокова<sup>[5]</sup> 曾分离得一株乙烷氧化菌,該菌与 *Mycobacterium ferrugosum* 相近,而因能还原硝酸盐,水解淀粉和氧化乙烷,也另作为一变种定名为 *Mycobacterium ferrugosum* var. *ethanicum*。

## 2. *Mycobacterium lacticum* var. *ethanicum* 的生理特性

### (1) 影响生长的因素

**pH** 不同 pH 的无机培养液,是先用 1/15  $MNa_2HPO_4$  和  $KH_2PO_4$  配成一系列不同 pH 的缓冲液,而后再加一定量的  $KNO_3$ ,  $MgSO_4$  和  $NaCl$  配成,在接种前,用雷磁 21 型 pH 計測定实际的 pH 值。接种后,同样在 30°C 和乙烷气圈中培养 5 天。試驗結果见图 5。生长的最适 pH 为 7.0, pH 在 4.5 和 9.0 时不能生长。

**乙烷浓度** 为了求得培养乙烷氧化菌所要求的最适乙烷浓度,把菌同样接种至无机培养基中,置于真空干燥器內,抽去空气,按压力計水銀柱高度通入不同乙烷量(各乙烷浓度所要求的水銀柱高度,以当天气压和乙烷原始浓度来换算),在 30°C 培养 5 天。試驗結果如图 6。結果表明:乙烷浓度从 10% 到 90% 时,均能生长;在 30% 时,生长較好;乙烷浓度过低或太高时,菌量生长减少,这是因为在乙烷浓度过高时氧的不足,和在乙烷浓度过低时碳及能源供給的不足,因而限制了菌的生长。

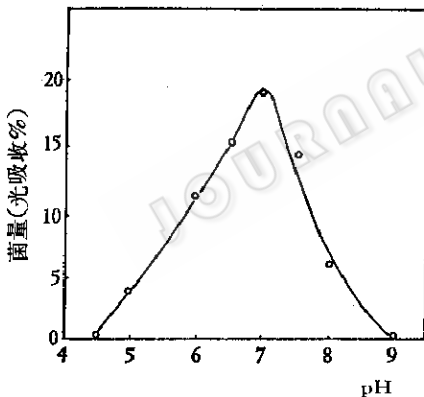


图 5 pH 对生长的影响

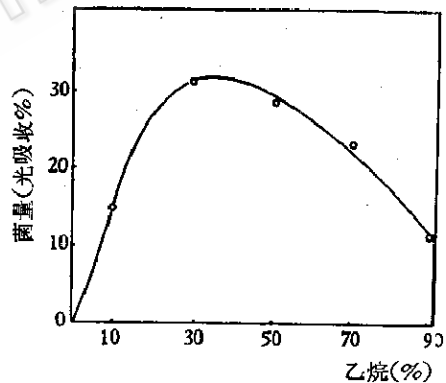


图 6 乙烷浓度对生长的影响

注:乙烷%为乙烷在空气中的体积%。

**生长素** 乙烷氧化菌是否需要生长因素,未見到任何資料。我們試驗了 8 种生长素。在試驗中,接种用的菌体均用生理盐水洗滌两次,而后做成菌悬液,接种入含各种生长素的无机培养基中。各种生长素浓度的选择,是根据 J. R. Porter 于細菌的化学和生理学一书中所載 *Mycobacterium* 的菌要求的浓度<sup>[20]</sup>。試驗結果列于表 2。

由表 2 可以看出,离心洗滌的菌体接种于无生长素的培养基中不能良好生长,而接种到每毫升含 3.5 毫克維生素 B<sub>1</sub> 和 0.5 微克尼古丁酸的培养基中,生长良好,尼古丁酸存在时生长最好,其他生长素的作用不明显,是否浓度不合适,尚不了解。表中結果也表明:未离心洗滌的菌体接种至无生长素的培养基中仍能生长,生长菌量較尼古丁酸存在时低,而洗滌过的菌体接种到无生长素的培养基中,就不能良好生长。由此可以推測,这种乙烷氧

表2 生长素对乙烷氧化菌的影响

生长素	試驗浓度 (微克/毫升)	菌混浊度 (光吸收%)	生长素	試驗浓度 (微克/毫升)	菌混浊度 (光吸收%)
尼古丁酸	0.5	75.5 48.0	泛酸鈣	10.0	8.0 9.0
維生素 B <sub>1</sub>	3,500	29.0 27.0	氨基甲酸	1.0	8.0 11.5
維生素 B <sub>2</sub>	1.0	7.5 8.5	对照	0	3.0 0
維生素 B <sub>6</sub>	0.5	9.0 10.0			
生物素	0.5	10.0 9.0			

注: 生长素試驗的接种菌体都經离心洗涤; 在 30°C, 乙烷气圈中培养 5 天。

化菌在生长过程中尚能合成所需的生长素, 但合成能力較弱, 在接种时如果适当加入这些生长素就能促进其生长; 同时这也解释了为什么在我們的預备試驗中接种量过少时生长緩慢, 而用菌体和原始培养基做成悬液接种时, 生长迅速。因此在培养乙烷氧化菌时, 培养基中增加一定量的尼古丁酸和維生素 B<sub>1</sub> 是必要的。

(2) 对不同氮源的利用能力 在不同氮源的試驗中, 各种氮源的培养基中含 0.02% 的氮, 而以蛋白胨为氮源时, 加入 0.3% 蛋白胨。試驗結果以图 7 表示。乙烷氧化菌能利用无机的硝态和氨态氮, 同时也能以有机的天門冬素, 蛋白胨和尿素作为氮源, 然而不能利用亚硝酸盐, 和石油中常含有的三乙胺及吡啶。在无机氮源中, 硝酸铵是最好的氮源。另外, 在試驗中并发现: 以硝酸铵和硫酸铵为氮源时, 培养物的最終 pH 降低, 硝酸鉀則升高。以硝酸铵为氮源时, pH 降低很明显, 推測可能是选择利用了 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 而剩下的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 使培养物变成酸性。由此也可认为, 在氨态氮和硝态氮同时存在时, 这种菌优先利用氨态氮。

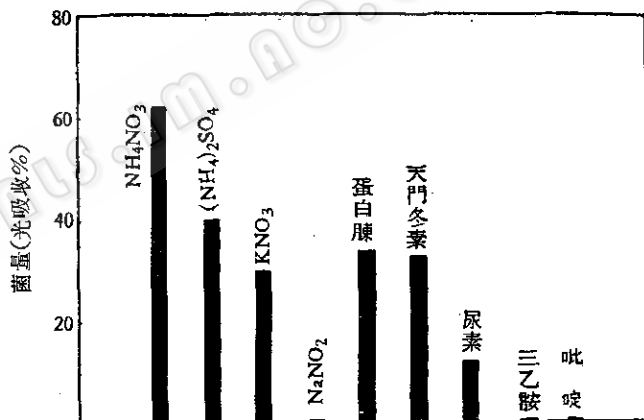


图7 乙烷氧化菌对不同氮源的利用

(3) 对各种烃类化合物和 CO<sub>2</sub> 及 H<sub>2</sub> 的利用能力 在試驗各种气态烃的利用能力时, 所用方法与上述乙烷培养的方法相同; 試驗低沸点液态烃时, 在真空干燥器中加入少許烃的液体, 于这样形成的烃蒸汽圈中培养; 原油、液体石蜡和各种固体烃等, 是按 0.3% 的量直接加入无机液体培养基中; 在 H<sub>2</sub> 和 CO<sub>2</sub> 的利用能力的試驗中, 应用 H<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub> 和空气的混合气, 其組成为: H<sub>2</sub>, 50%; CO<sub>2</sub>, 15%; 空气, 35%<sup>[19]</sup>。

試驗結果列于表 3。从表 3 可以明显看出: 我們所分离的乙烷氧化菌能利用从 C<sub>2</sub>—C<sub>6</sub> 的所有烷烃, 在乙烷中生长最好, 而在丁烷和己烷中生长比較緩慢; 对高級烃类, 如液体石蜡和石蜡等, 也稍能利用; 不能利用試驗过的所有烯烃 (C<sub>2</sub>—C<sub>4</sub>), 也不能利用 H<sub>2</sub> 和 CO<sub>2</sub>。

关于氧化乙烷以上烷烃的菌, 能否利用甲烷, 在文献中常見到矛盾的結果。如 J. Tausz 和 P. Donath<sup>[21]</sup> 从己烷中分离的菌也能利用甲烷、乙烷、丙烷、丁烷和更高级的烃

表 3 乙烷氧化菌对各种烃和 CO<sub>2</sub> 及 H<sub>2</sub> 的利用能力

烃类化合物	生长情况	烃类化合物	生长情况	烃类化合物	生长情况	烃类化合物	生长情况
甲 烷	-	己 烷	+	液体石蜡	++	原 油	-
乙 烷	+++	庚 烷	-	十四碳烷	-	苯	-
丙 烷	+++	乙 烯	-	石 蜡	+	甲 苯	-
丁 烷	+	丙 烯	-	石油醚	+	酚	-
戊 烷	+++	丁 烯	-	汽 油	-	H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>	-

注：“-”表示不生长；“+”培养液表面有少許菌体生长；“+++”生长无色不透明菌膜；“++++”生长粉红色致密厚层菌膜。

类；3. П. Телегина<sup>[7]</sup> 分离的丙烷氧化菌也能利用甲烷、乙烷、丙烷和丁烷；但是 E. H. Бокова<sup>[5]</sup> 分离的乙烷氧化菌和丙烷氧化菌却不能利用甲烷；J. B. Davis<sup>[12]</sup> 和 M. Dworkin 等<sup>[19]</sup> 也证明乙烷氧化菌不能利用甲烷，氧化甲烷的假象常常是由试验用的甲烷中含有少量乙烷所引起的。我们分离的乙烷氧化菌也不能利用甲烷。乙烷氧化菌能否利用甲烷可能因菌种或菌株不同而各异，但这关系到利用它们作为指示菌时，是否受甲烷现代形成的影响，因此分离更多的菌株做进一步的研究，得出最终的结论将有很大意义。

(4) 对各种非烃有机物的利用能力 对于乙烷氧化菌利用非烃有机物的能力，进行了比较广泛的试验，试验中应用了糖类、酸类、醇类和醛类等化合物，各种有机物是以 0.3% 的浓度加入无机培养基。试验结果列于表 4，结果表明：乙烷氧化菌能利用许多有机物生长；C<sub>2</sub> 和 C<sub>3</sub> 的醇和酸能被利用，而 C<sub>1</sub> 和 C<sub>4</sub> 的醇及酸不能被利用，前者是与乙烷和丙烷的代谢过程中形成这些中间产物有关，后者与不利用甲烷和利用丁烷能力微弱有关；不利用三羧酸循环中的中间产物——丙酮酸和柠檬酸，这是否因为乙烷氧化菌氧化乙烷等基质的途径与一般不同，或是其他原因，尚不清楚。

表 4 乙烷氧化菌对各种非烃有机物的利用能力

有机物	菌量 (光吸收%)	有机物	菌量 (光吸收%)	有机物	菌量 (光吸收%)	有机物	菌量 (光吸收%)
葡萄糖	88	酵母汁	60	乳酸钙	73	正丁醇	0
麦芽糖	52	牛肉汁	0	甲 醇	0	丁 酸	0
蔗糖	89	蛋白胰	44	甲 酸	0	苯甲酸	41
淀粉	0	丙酮酸	8	乙 醇	82		
乳糖	0	柠檬酸	5	乙 酸	25		
纤维素	0	草 酸	0	正丙醇	30		

注：1. 有机物在无机盐培养基中，含量为 0.3%；  
2. 有机酸加入培养基后，用 NaOH 中和成钠盐；  
3. 易挥发的醇和酸用无菌过滤器过滤。

关于乙烷氧化菌能否利用非烃有机物，文献中也常遇到相反的结果。B. M. Губин<sup>[10]</sup> 最早分离的菌 *Bacterium hidium*，不能在蛋白胰肉汁上发育；E. H. Бокова<sup>[5]</sup> 分离的菌 *Mycobact. ferrugosum ethanicum* 却能在肉汁蛋白胰洋菜上生长；J. B. Davis<sup>[12]</sup> 所分离的 *Mycobacterium paraffinicum* n. sp. 除利用乙醇和乙酸外不利用任何非烃有机物；在 M. Dworkin<sup>[19]</sup> 所分离的四株能利用乙烷的 *Mycobacterium* 菌中，两株能利用许多有机物生长，而另两株根本不利用任何非烃有机物。从上述作者的研究结果和我们的结果看来，

乙烷氧化菌能否利用非烃有机物,随不同菌株而异,利用和不利用非烃有机物的菌同时存在于自然界。关于自然界究竟那一类型的菌分布更广,和各种有机物对这两类菌的影响如何,尚待研究。这些问题的研究,有助于进一步阐明乙烷氧化菌指示油气藏的特异性。

## 摘 要

从油田土中分离得 10 株乙烷氧化菌。其中七株与 *Mycobacterium lacticum* 很相近,但能还原硝酸盐和利用乙烷良好生长,因此定名为 *Mycobacterium lacticum* var. *ethanicum*。另外属于 *Pseudomonas* 的两株菌和属于 *Bacterium* 的一株菌,在研究过程中丧失了氧化乙烷的能力。

*Mycobacterium lacticum* var. *ethanicum* 生长要求生长素,如尼古丁酸和维生素 B<sub>1</sub>; 最适 pH 是 7.0; 最适乙烷浓度为 30%。

这种乙烷氧化菌能利用乙烷、丙烷和戊烷良好生长,并能微弱地利用丁烷、己烷、液体石蜡和石蜡生长,但在甲烷、庚烷、十四碳烷、烯烃和 CO<sub>2</sub> 及 H<sub>2</sub> 的混合气圈存在下不能生长。除烃类化合物外,还能利用多种有机物作为碳及能源。

这种菌能利用 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KNO<sub>3</sub>, 蛋白胨或天门冬素作为氮源,但不利用亚硝酸盐、三乙胺和吡啶。NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 是最好的氮源。

## 参 考 文 献

- [1] Söhngen, N. L.: *Centr. Bakt. Parasitenk., Abt. II*, 15, 513—517, 1906.
- [2] Beerstecher, E.: *Petroleum Microbiology*, New York, 1954.
- [3] Моглевский, Г. А.: *Нефт. хозяйство*, вып. 4—5, 1937.
- [4] Leadbetter, E. R., Foster J. W.: *Arch. Mikrobiol.* 30(1):91—118, 1958.
- [5] Бокова, Е. Н.: *Микробиология* 23(1): 15—21, 1954.
- [6] Кузнецов, С. И., Телегина З. П.: *Микробиология* 26 (5): 513—518, 1957.
- [7] Телегина, З. П.: *Микробиология*, 30(5): 912—16, 1961.
- [8] Телегина, З. П., Сминова З. С.: *Труды института микробиология*, 6, 110—15, 1959.
- [9] Dostálek, M. V.: *Чехословацкая биология* 3(3): 173—81 1954.
- [10] Губин, В. М.: *Курортное дело* 5, (据 Бокова 1954<sup>[5]</sup>).
- [11] Blau, L. W.: U. S. Patent 2, 269, 889, 1942.
- [12] Davis, J. V.: *Appl. Microbiol.* 4:6, 310—15, 1956.
- [13] Dostálek, M. V.: *Prace Ústavu Pro Naftový Vyzkum*, Ser. E No. 14—16, 21—37, 1956. (据 *Chemical Abstract*, 50, 15716, 1956).
- [14] 閻遜初等译, Красильников, Н. А.: *Определитель бактерий и Актиномицетов* 科学出版社出版 1958.
- [15] 微生物研究所, 地微室: *微生物*, 2, 3, 97—103, 1960.
- [16] 葛修斋、卢佩章: 中国科学院石油研究所, 煤炭研究室报告集刊, 第 2 集, 1958.
- [17] Hutton, W. E., ZoBell C. E.: *J. Bact.* 58(4): 463—73, 1949.
- [18] Völz, H., Schwartz, W.: *Zeitschrift für allg. Mikrobiologie*, 2(2):157—63, 1962.
- [19] Dworkin, M., Foster, J. W.: *J. Bact.* 75(5):593 1958.
- [20] Porter, J. R.: *Bacterial Chemistry and Physiology*, 717—756, New York, 1945.
- [21] Tausz, J., Donath, P.: *Z. Physiol. Chem.*, 190, 141—68, 1930. (据 ZoBell: *Advances in Enzymology*, 10:443—86, 1950).

## STUDY ON THE ETHANE-OXIDIZING BACTERIA

CHANG KAI-MING JAW CHIH-JUNG

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Peking)

Ten strains of ethane-oxidizing bacteria have been isolated from the soil of oil fields. Seven of them are alike to *Mycobacterium lacticum* but can reduce nitrate and grow well while utilizing ethane, thus they are designated as *Mycobacterium lacticum* var. *ethanicum*. Two others belonging to *Pseudomonas* and another one belonging to *Bacterium* lost their ethane-utilizing ability during the course of study.

*Mycobacterium lacticum* var. *ethanicum* requires growth factors such as nicotinic acid and vitamin B<sub>1</sub> for their growth. The optimum pH has been found to be 7.0, and the optimum ethane concentration in air 30%.

They grow well while utilizing ethane, propane, and pentane, and grow weakly while assimilating butane, hexane, liquid paraffin, and paraffin wax, but do not grow in the presence of methane, heptane, olefines, and a mixed atmosphere of CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>. In addition to hydrocarbons, a variety of organic nonhydrocarbon substrates can be utilized by them as sources of carbon and energy.

They utilize well NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KNO<sub>3</sub>, peptone, or asparagine as sources of nitrogen, but do not utilize nitrite, triethanolamine, and pyridine. For them NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> appears to be the best source of nitrogen.