

# 产胶棒状杆菌 S<sub>114</sub> 石油发酵粘多糖的研究\*

## I. 菌种的鉴定

中国科学院微生物研究所细菌分类组  
(北 京)

南开大学生物系微生物专业  
(天 津)

从胜利油田土壤中分离了一株革兰氏阳性,无芽孢,无鞭毛,好气的细菌 S<sub>114</sub>。它在普通牛肉汁培养基上菌落圆形,边缘细齿状,呈法螺红至芙蓉红色。菌体短杆状至棒状,单个或“V”字形排列。能由葡萄糖、果糖、甘露糖、蔗糖、甘露醇、海藻糖和甘油产酸不产气,能以柠檬酸盐和其它多种有机酸盐作为唯一碳源。能以无机氮为氮源并以石油或液体石蜡为碳源发酵产生粘多糖。经鉴定认为 S<sub>114</sub> 是棒状杆菌属的一个新种。命名为产胶棒状杆菌 (*Corynebacterium gummiferum* nov. sp. Wang et Yang)。

近年来,采用油井注入稠化水及高粘水基压裂液新工艺采油,对提高采油效率有明显效果。为了寻找适于我国应用的稠化剂及压裂液,我们分离了一株利用石油产生多糖粘稠物的细菌 S<sub>114</sub>。用这种粘稠物作为油田注水稠化剂及压裂液,在室内进行了模拟试验,取得了一定效果。经鉴定 S<sub>114</sub> 是一株棒状杆菌,与国内外已发表的棒状杆菌<sup>[4-24]</sup> 均不相同,是棒状杆菌属内的一个新种,命名为产胶棒状杆菌 (*Corynebacterium gummiferum* nov. sp. Wang et Yang)。本文报道其鉴定结果。

S<sub>114</sub> 分离自油田土壤中,用普通牛肉汁琼脂斜面传代,冰箱保存备用。鉴定试验在 30℃ 进行。主要按《一般细菌常用鉴定方法》<sup>[1]</sup> 及《微生物学方法手册》<sup>[2]</sup>,并依据 Bergey 氏《细菌鉴定手册》<sup>[3]</sup> 第八版和第七版的方法进行鉴定。

### 一、形态特征

将普通牛肉汁琼脂斜面上培养不同时间的培养物,用光学显微镜观察,6 小时的

细胞较长,0.6—0.8 × 1.0—5.0 微米,两端钝圆,稍弯曲,但未见真正分枝,革兰氏染色阳性;24 小时或 48 小时呈短杆状,0.6—0.8 × 1.0—3.0 微米,棒状,有的稍弯曲,折断裂,但不同时断裂;细胞呈单个,成对

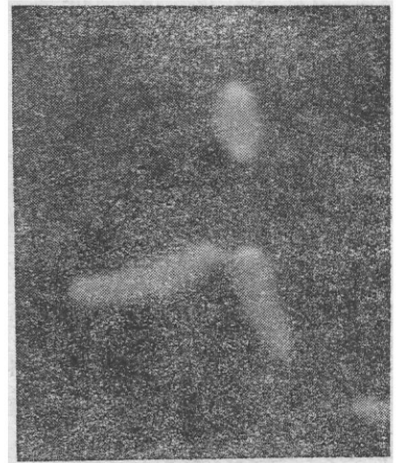


图 1 产胶棒状杆菌的细胞形态 培养 18 小时,12000 ×

本文于 1977 年 12 月 26 日收到。

\* 菌种定名人: 中国科学院微生物研究所王大相和南开大学生物系杨德成。中国科学院微生物研究所王永祥、刘如臻二同志协助拍摄电镜照片。

15. 不产生乙酰甲基甲醇。
16. 甲基红反应: 阴性。
17. 过氧化氢酶试验: 强阳性。
18. 脲酶试验: 阳性。
19. 细胞色素氧化酶试验: 阴性。
20. 糖醇类产酸试验: 对葡萄糖、果糖、甘露糖、蔗糖、甘露醇产酸较快;对海藻糖、甘油 4 天才产酸,但都不产气。

培养 14 天后也不能对麦芽糖、阿拉伯糖、木糖、乳糖、半乳糖、赤藓糖、山梨糖、棉子糖、鼠李糖、蜜二糖、肝糖、菊糖、纤维二糖、淀粉、肌醇、卫矛醇、阿东糖醇、山梨醇、水杨素、糊精产酸产气。

21. 有机酸利用: 由于溴麝香草酚蓝对此菌株有抑制作用,故采用 0.5% 的酚红水溶液 0.3% (V/V) 作指示剂。测定结果表明, S<sub>114</sub> 利用乙酸、琥珀酸、柠檬酸、苹果酸、丙酮酸、反丁烯二酸、谷氨酸、安息香酸。不利用葡萄糖酸、甲酸、丙二酸、草酸、马尿酸、尿酸、乳酸。

22. 烃的利用: 利用液体石蜡或原油为碳源产生粘多糖。

## 四、致病性

将 24 只 18—20 克健康小白鼠分为四组,第一组皮下注射 0.1 毫升生理盐水菌悬液(菌浓度 1.5 亿/毫升),第二组腹腔注射肉汤培养液 0.2 毫升(菌浓度 5 亿/毫升),第三组腹腔注射 2 毫升生理盐水菌悬液(菌浓度 1.5 亿/毫升),第四组作空白对照,经两周观察均未死亡和异常现象,解剖后与对照组比较未发现病变,说明 S<sub>114</sub> 对小白鼠不致病。

## 讨 论

S<sub>114</sub> 菌株革兰氏染色阳性,细胞形态短杆状至棒状,稍弯曲,折断分裂,单个,成对及“V”字形排列。未见真正分枝。有异染

粒,胞壁染色有横隔,抗酸染色阴性,不形成芽孢,过氧化氢酶强阳性,好氧生长,在普通牛肉汁琼脂培养基上生长良好。按伯杰氏《细菌鉴定手册》第八版的描述应列为棒状杆菌群。

根据 S<sub>114</sub> 菌株在培养过程中革兰氏染色和形态无循环变化;不分解纤维素;在脱脂牛奶中 72℃15 分钟全部死亡;对动物不致病,分离自油田土壤,应归为棒状杆菌属(*Corynebacterium*) 的土壤腐生菌群。由于考虑到它是否为植物致病菌,我们与伯杰氏《细菌鉴定手册》中的各个种进行了比较,都不相同。

我们还与近年来国内外发表的 24 个棒状杆菌新种逐一进行了比较。S<sub>114</sub> 不同于昆虫致病菌 *C. okanaganae*<sup>[4]</sup> 和人的致病菌 *C. nebraskense*<sup>[5]</sup>, 对于其中非致病的腐生棒状杆菌,多为产氨基酸的新种。S<sub>114</sub> 不同于国内发表的北京棒状杆菌(*C. pekinese*)<sup>[6]</sup> 和钝齿棒状杆菌(*C. crenatum*)<sup>[7]</sup>。对于国外报道的棒状杆菌,与产粘多糖的棒状杆菌 *Corynebacterium* spp.<sup>[8]</sup> 和 *C. autotrophicum*<sup>[9]</sup> 进行了比较,不相同。在种的描述中提及利用碳氢化合物的新种中与 *C. alkanocyticum*<sup>[10]</sup>, *C. paraldehydium*<sup>[11]</sup>, *C. aurantiacum*<sup>[12]</sup>, *C. roseum*<sup>[12]</sup>, *C. flavo-aurantiacum*<sup>[11]</sup>, *C. cyclohexanicum*<sup>[13]</sup> 和 *C. hydrocarboclastus*<sup>[14]</sup> 不相同。与 *C. petrophilum*<sup>[15]</sup> 较接近,但该菌株无异染粒,营养肉汤培养无沉淀;菌落光滑,全缘;不产生 H<sub>2</sub>S; 对蔗糖、甘油不产酸,对葡萄糖和甘露糖产酸不定,故与 S<sub>114</sub> 不相同。对于在种的描述中没有提及利用碳氢化合物的各种中,与 *C. polymorph*<sup>[16]</sup>, *C. acetophilum*<sup>[17]</sup>, *C. acetoglutamicum*<sup>[18]</sup>, *C. melassecola*<sup>[19]</sup>, *C. hercullis*<sup>[20]</sup>, *C. glycinophilum*<sup>[21]</sup>, *C. glutamicum*<sup>[22]</sup> 不相同,而与 Shiiro 等人报道的 *C. acetacidophilum*<sup>[23]</sup>, 及 Lee 等人报道的 *C. ca-*

表 1 *S*<sub>114</sub> 菌株与相似菌株的比较

菌株	项目	菌苔颜色	M. R.	硝酸盐还原	糖、醇产酸				
					甘露醇	甘油	麦芽糖	水杨素	棉子糖
<i>S</i> <sub>114</sub>		法螺红至芙蓉红	-	-	+	+	-	-	-
<i>C. acetoacidophilum</i>		黄色	(+)	-	-	-	+	-	-
<i>C. lilium</i>		稍黄	(+)	+	+	-	+	-	-
<i>C. callunae</i>		稍黄	(+)	-	+	-	+	+	+

注: 所试糖醇都不产气。

*llunae* 和 *C. lilium*<sup>[24]</sup> 较接近。它们的比较见表 1。

*C. callunae* 能从麦芽糖、水杨素、棉子糖产酸, 对甘油不产酸, M. R. 弱阳性, 菌苔微黄, 故与 *S*<sub>114</sub> 不相同; *C. lilium* 菌苔微黄, M. R. 弱阳性, 能把硝酸盐还原为亚硝酸盐, 对甘油不产酸, 对麦芽糖产酸, 故与 *S*<sub>114</sub> 不相同; *C. acetoacidophilum*, 菌苔黄色, M. R. 弱阳性, 对甘油、甘露醇不产酸, 对麦芽糖产酸, 故与 *S*<sub>114</sub> 不相同。Abe, S.<sup>[25]</sup> 等人对表 1 中与 *S*<sub>114</sub> 相似的三株菌及其它一些菌株的分类研究中, 强调指出了由于麦芽糖、甘露醇、水杨素产酸及硝酸盐还原等试验的稳定性, 而把它们作为对这些菌的主要分类依据。根据以上结果, 我们认为: 表 1 中的三株菌与 *S*<sub>114</sub> 是不相同的。

## 结 论

由于 *S*<sub>114</sub> 不同于伯杰氏《细菌鉴定手册》中棒状杆菌属的各种, 也区别于近年来国内外发表的棒状杆菌新种。它在普通培养基上及其它一些培养基上菌落圆而边缘细齿状至裂叶状, 呈近于法螺红至芙蓉红色, 对甘露醇、甘油产酸, 对麦芽糖不产酸, M. R. 阴性, 利用多种有机酸, 利用石油产生粘多糖等特性, 故认为是一个新种, 定名为产胶棒状杆菌 (*Corynebacterium gummi-ferum* nov. sp. Wang et Yang)。菌种保藏

在南开大学生物系微生物专业和中国科学院微生物研究所, 菌号为 AS 1.944。

## 参 考 文 献

- [1] 中国科学院微生物研究所细菌组: 《一般细菌常用鉴定方法》, 科学出版社, 北京, 1978 年。
- [2] Conn, H. J.: *Manual of Microbiological Methods*, The Society of American Bacteriologists Committee on Bacteriological Technic, McGraw-Hill, New York, 1957.
- [3] Breed, R. S.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th, ed., 1974.
- [4] Luthy, P.: *Can. J. Microbiol.*, 20 (5): 791—794, 1974.
- [5] Vidaver, A. K.: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 24 (4): 482—485, 1974.
- [6] 陈琦、张震元、李玲阁: 微生物学报, 13: 1—6, 1973.
- [7] 陈琦、李玲阁: 微生物学报, 15 (2) 119—123, 1975.
- [8] Tomonori Nagahama, et al.: *Agr. Biol. Chem.*, 41 (1): 9—16, 1977.
- [9] Baumgarten, J.: *Arch. Microbiol.*, 100 (3): 207—217, 1974.
- [10] 中尾义雄等: *Amino Acid and Nucleic Acid*, 25: 1—7, 1972.
- [11] Takayama, K.: *J. Ferment. Technol.*, 48: 669—675, 1970.
- [12] Izuka, H. et al.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 13: 125—137, 1967.
- [13] Tokayama, T.: *Can. J. Microbiol.*, 19 (8): 937—942, 1973.
- [14] Yamada, K. et al.: *Agr. Biol. Chem.*, 27: 773—783, 1963.
- [15] 井口桥等: 日蔑化, 40: 26—33, 1966.
- [16] 高桥秀臣等: *Amino Acid and Nucleic Acid*, 15: 64—75, 1967.
- [17] Harada, T. et al.: *J. Ferment. Technol.*, 46: 169—176, 1968.
- [18] Kayowa Hakkō Kogyo Co. Ltd.: *Fr.* 1424809, 1966.

- [19] Geto, Nishio, Kojima, et al.: U. S. Patent, 3355350, 1967.
- [20] Distillers Co. Ltd.: British Patent, 996906, 1965.
- [21] Kubata, K. et al.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 18: 365—375, 1972.
- [22] Kinoshita, S. et al.: *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, 22: 176—185, 1958.
- [23] Shio, I. et al.: U. S. Patent, 3117915, 1965.
- [24] Lee, W. H. and Good, R. C.: U. S. patent, 3087863, 1963.
- [25] Abe, S. et al.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 13: 279—301, 1967.

## STUDIES ON THE PRODUCTION OF POLYSACCHARIDE BY PETROLEUM FERMENTATION OF *CORYNE- BACTERIUM GUMMIFERUM* NOV. SP.

### I. IDENTIFICATION OF ORGANISM

Research Group of Systematic Bacteriology, Institute of  
Microbiology, Academia Sinica

(Beijing)

Microbiology Laboratory, Department of Biology, Nankai University

(Tianjin)

A Gram-positive non-sporulating coryneform bacterium was isolated from soil of oil field. Under optimum conditions this strain accumulates aerobically a large amount of slime polysaccharide in a medium containing petroleum or n-paraffin with ammonium salts. It is identified as a new species of the genus *Corynebacterium*, and designated as *Corynebacterium gummiferum* nov. sp., and described as follows:

Vegetative cells are usually short rods,  $0.6-0.8 \times 1.0-3.0 \mu\text{m}$ , with round ends, sometimes club-shaped or slightly curved rods, in 'V' shaped arrangement, unbranched, with metachromatic granules and septa. Gram-positive, aerobic, not acid fast, non-motile.

On nutrient agar slant the organism gives moderate growth, filiform slightly spreading, non-glistening, granular, greenish, no soluble pigment produced. Colonies on nutrient agar plate are circular, crenated, convex, rough, opaque and dull, 1—3 mm. In diameter and no

pigment penetrated to the medium. Unshaken nutrient broth becomes turbid with ringed growth on surface and flocculent sediments. This strain grows abundantly on potato plug with greening pigment. Optimum temperature is 30—32°C. There is no survival at 72°C for 15 minutes in skim milk. Optimum pH is about 7.0. Nitrite is not produced from nitrate. Gelatin is not liquefied, litmus milk changes slightly alkaline after four days. Casein is not dissimilated. Indole is not produced. Hydrogen sulfide is produced from cystine. Starch and fat are not hydrolysed; cellulose is not decomposed. Acetylmethyl carbinoil is not produced. Methyl red test is negative. Positive reactions for catalase and for urease are observed. Cytochrome oxidase test gives negative result. Acid but no gas from glucose, mannose, sucrose, fructose, and mannitol; acid from trehalose and glycerol after four days, neither acid nor gas from maltose, arabinose, xylose, lactose, galactose, erythri-

tol, raffinose, cellobiose, sorbose, rhamnose, melibiose, inulin, glycogen, starch, inositol, sorbitol, dulcitol, adonitol, salicin and dextrin. Citrate and other salts of organic acids are utilized as the sole source of carbon. Non-pathogenic for

mouse.

The type strain of *Corynebacterium gummiferum* is deposited in Dept. of Biology, Nankai Univ., and in Type Collection of Institute of Microbiology, Academia Sinica, as AS 1.944.