

## 嗜酸红假单胞菌的分离与鉴定

曾焕泰 陈惠年 李 苹

(福建师范大学生物工程学院 福州 350007)

卢 芳 华

(福建师范大学实验中心 福州 350007)

**关键词** 嗜酸红假单胞菌, 分离, 鉴定

**分类号** Q93-331

光合细菌因其在环境保护和水产养殖等方面的广泛应用<sup>[1]</sup>而日益受到重视。作者从污泥中分离到一株嗜酸的光合细菌,在水产养殖上初步应用取得良好效果<sup>[2]</sup>,现将分离鉴定结果报道如下。

### 1 材料和方法

#### 1.1 菌株来源

菌株系从福州市的水沟底泥中分离得到,编号 P301。

#### 1.2 培养基和培养条件

1.2.1 培养基:以星野八洲雄的基本培养基<sup>[1]</sup>作为基础培养基,添加终浓度为 0.1% 的碳源作为富集培养基。后者加入琼脂制成分离培养基。

1.2.2 培养条件:光照厌氧培养,液体培养用密封的生理盐水瓶或试管,平皿培养用 825-A 型厌氧罐进行,光照强度 1 500 lx,温度 30℃。

#### 1.3 富集和分离纯化

污泥样品接入富集培养基,经多次富集培养获得 P3 菌,再用琼脂振荡法分离和琼脂平板法纯化<sup>[1]</sup>。

#### 1.4 形态观察

在光学显微镜下观察革兰氏染色和类脂粒染色的结果。用电镜观察,以确定个体形态,繁殖方式及光合膜结构类型。

#### 1.5 活细胞吸收光谱的测定

培养物经离心洗涤,悬浮于 60% 的蔗糖溶液中,在岛津 UV2201 型紫外可见分光光度计上扫描,波长范围 300~900nm。

#### 1.6 生理特性测定

1.6.1 生长的 pH 范围:培养基从 pH4.0~10.0 共分 12 个梯度,分别接菌培养,培养 7、12 和 15d 进行生长测定。

1.6.2 生长因子的需求:以无生长因子和酵母膏的培养基为对照,以分别加入单一或组合生长因子的培养基为处理,接菌培养 7d,进行生长测定。

1.6.3 碳源和电子供体的利用:参照文献 [1] 和 [3] 的方法进行。

1.6.4 氮源的利用:在无氮培养基中,分别加入不同的氮源化合物或分子氮,接菌培养 7d,进行生长测定。

1.6.5 蛋白酶、接触酶及氢化酶的测定:分别用明胶水解法、过氧化氢接触法和亚甲兰法测定。

### 1.7 DNA的G+C含量测定

参照文献[4]用热变性温度(Tm)法测定。

## 2 结果和讨论

### 2.1 形态和培养特征

菌株 P301 为革兰氏阴性细菌,细胞杆状,大小  $0.8 \sim 1.2 \times 2.0 \sim 5.0 \mu\text{m}$ ,以极生鞭毛运动。出芽生殖,子细胞为无柄芽。细胞内有聚- $\beta$ -羟基丁酸盐。光合内膜系统呈平行的片层结构,位于细胞膜之下并与其相连(图1)。

菌株 P301 在琼脂管中的菌落为紫红色球状体,直径  $2 \sim 8\text{mm}$ 。在平皿培养基中呈暗紫红色,圆形,光滑,中间隆起,边缘整齐,直径  $1 \sim 3\text{mm}$ 。液体培养物为紫红色至橙棕色。

### 2.2 色素成分

菌株 P301 活细胞的吸收光谱表明,细胞内含有菌叶绿素 a (特征性吸收峰为 375、592、805 和 863nm) 和类胡萝卜素 (特征性吸收峰为 460、490 和 525nm)。

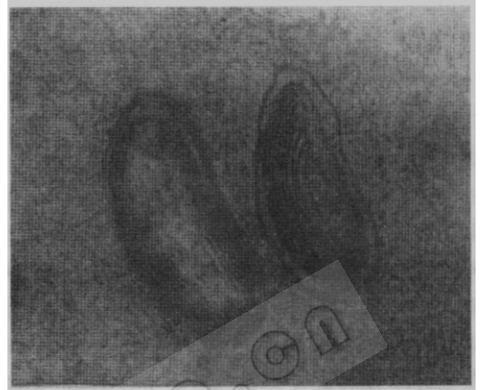


图1 菌株P301的光合内膜(12 000 $\times$ )

### 2.3 生理特性

菌株 P301 的生长不要求生长因子;在 pH4.5~7.5 的培养基中均可以生长,最适生长 pH 值为 pH5.0~5.7。

菌株 P301 与嗜酸红假单胞菌模式菌株<sup>[3,5]</sup>比较,可利用的碳源、电子供体和氮源基本相似,两者均能以  $\text{CO}_2$  和  $\text{H}_2$  营光能自养生活,不以硫化物为光合电子供体;两者均能利用铵盐和分子氮等无机氮源。而它们可利用的有机底物有些差异,即菌株 P301 能利用柠檬酸盐、酒石酸盐和酪蛋白氨基酸,不利用戊酸盐和延胡索酸盐而有别于模式菌株。此外,P301 能以谷氨酸作为唯一的氮源,也有别于已报道的嗜酸红假单胞菌菌株<sup>[1]</sup>。

菌株 P301 与嗜酸红假单胞菌模式株<sup>[3,5]</sup>比较,两者均具有接触酶和氢化酶活性。菌株 P301 还具有蛋白酶活性。

### 2.4 DNA的G+C含量

菌株 P301 DNA 的 G+C 含量为 63.8mol%。文献 [3] 和 [5] 报道的嗜酸红假单胞菌 DNA 的 G+C 含量为 62.2 mol%~66.8mol%,模式株为 65.3mol%。

菌株 P301 的形态特征、培养特征以及主要的生理特性均与嗜酸红假单胞菌模式株相似,而在酶活性和有机底物利用能力等方面存在一些差异。参照有关文献 [3,5,6],将菌株 P301 定名为嗜酸红假单胞菌福建变种 (*Rhodospseudomonas acidiphila* var. *fujianensis* n. var.)。

## 参 考 文 献

- [1] 北村博,森田茂广,山下平仁.光合成细菌.东京:学会出版センター,1984.
- [2] 尤玉博,曾焕泰,陈惠年等.福建师范大学学报,1992,8(2):103~108.
- [3] Pfennig N. *J Bacteriol*,1969,99:597~602.
- [4] 長谷川武治.微生物の分類と同定[下].东京:学会出版センター,1985,181~189.
- [5] Buchanan R E, Gibbons N E. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th ed. Baltimore: Williams and Wilkins Co, 1974.24~57.

- [6] Holt J G, Krieg N R Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins Co, 1994.359~378.

## ISOLATION AND IDENTIFICATION OF *RHODOPSEUDOMONAS ACIDOPHILA* FROM FUJIAN PROVINCE, CHINA

Zeng Huantai Chen Huinian Li Ping

(Bio-engineering College, Fujian Normal University, Fuzhou 350007)

Lu Fanghua

(Experiment Centre, Fujian Normal University, Fuzhou 350007)

**Abstract** A strain P301 of Gram negative purple nonsulfur bacterium was isolated from the ditch's mud collected in Fuzhou, Fujian. The cells are rod-shaped. Multiplication occur by budding without stalk formation. Growth optimum pH is 5.0~5.7. No growth factors required. The cells contain bacteriochlorophyll a. The photosynthetic membrane system consists of parallel lamellae. According to Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed. (1974) and 9th ed. (1994), the strain was identified to be *Rhodopseudomonas acidophila*. But on the side of enzyme activity, utilization of organic substrates and others the strain some differ from the type strain described by N Pfennig (1969). Therefore the strain P301 was identified to be *Rhodopseudomonas acidophila* var. *fujianensis* n. var.

**Key words** *Rhodopseudomonas acidophila*, Isolation, Identification